

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Anatomía Patológica



TESIS DOCTORAL

**Ultraestructura de las lesiones producidas por antibióticos
aminoglucósidos (kalamicina y gentamicina) en el coclea de
cobaya**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María Dolores Ludeña de la Cruz

Madrid, 2015

María Dolores Ludeña de la Cruz

TP
1981
140



x - 53 - 045 662 - 4

ULTRAESTRUCTURA DE LAS LESIONES PRODUCIDAS POR ANTIBIOTICOS
AMINOGLUCOSIDOS (KANAMICINA Y GENTAMICINA) EN EL COCLEA
DE COBAYA

Departamento de Anatomía Patológica
Facultad de Medicina
Universidad Complutense de Madrid
1981



BIBLIOTECA

© María Dolores Ludeña de la Cruz
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1981
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-15909-1981

AUTOR:- MARIA DOLORES LUDENA DE LA CRUZ

TITULO:- ULTRAESTRUCTURA DE LAS LESIONES PRODUCIDAS
POR ANTIBIOTICOS AMINOGLUCOSIDOS (KANAMICINA
Y GENTAMICINA) EN LA COCLEA DEL COBAYA.

DIRECTOR:- JAIME A. MERCHAN CIFUENTES
AGUSTIN BULLON RAMIREZ

INSTITUCION:- UNIVERSIDAD COMPLUTENSE (MADRID)
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTOS DE ANATOMIA PATOLOGICA Y
DE HISTOLOGIA.

1980

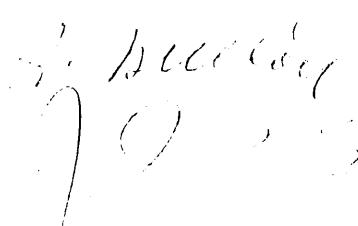
D. Agustín Bullón Ramírez, Catedrático de Anatomía
Patológica y D. Jaime Merchan Cifuentes, Profesor
Agregado de Histología y Embriología General de esta
Facultad de Medicina,

CERTIFICAN: Que el presente trabajo, titulado " UL-
TRAESTRUCTURA DE LAS LESIONES PRODUCIDAS
POR ANTIBIOTICOS AMINOGLUCOSIDOS (Kanami-
cina y Gentamicina) EN LA COCLEA DEL COBAYA"
ha sido realizado bajo nuestra dirección
por Dña. María Dolores Ludeña de la Cruz,
y que SI reúne los requisitos necesarios
para su presentación como memoria de
doctorado.

Madrid, 10 de abril de 1980

Prof.Dr.J. Merchan Cifuentes,

Prof.Dr.A. Bullón Ramírez



I N D I C E =====

	Pág.
PREAMBULO.....	I
ABREVIATURAS.....	1
INTRODUCCION.....	2
MATERIAL Y METODOS.....	53
RESULTADOS.....	72
SERIE I	
GRUPO A (KANAMICINA, 7 DIAS).....	75
GRUPO B (KANAMICINA, 15 DIAS).....	89
GRUPO C (KANAMICINA, 30 DIAS).....	109
SERIE II	
GRUPO E (GENTAMICINA, 7 DIAS).....	123
GRUPO F (GENTAMICINA, 15 DIAS).....	133
GRUPO G (GENTAMICINA, 30 DIAS).....	147
DISCUSION	
SISTEMATIZACION DE LAS LESIONES.....	159
DISCUSION DE LOS HALLAZGOS MORFOLOGICOS.....	173
ANALISIS DE LOS MECANISMOS DE LESION.....	183
RESUMEN Y CONCLUSIONES.....	228
BIBLIOGRAFIA.....	235

P R E A M B U L O
=====

La presente memoria es el resultado de 4 años de trabajo sobre la morfoestructura normal y patológica del receptor auditivo, y se encuentra dentro de una línea de investigación desarrollada conjuntamente por miembros de las Cátedras de Histología , Anatomía Patológica y O.R.L. de esta Facultad. Dentro de este amplio proyecto, del que han emergido ya distintas tesis de doctorado y de licenciatura, nos fue encomendado, cuan aún eramos pre-graduados, el estudio de las lesiones inducidas por antibióticos ototóxicos, un problema que pese a ser tan antiguo como la propia estreptomicina, dista mucho de ser bien conocido.

En realidad, y aunque la bibliografía sobre este asunto es abundante, los artículos disponibles se refieren generalmente a aspectos clínico-farmacológicos, escaseando los análisis sistematizados sobre la Anatomía Patológica del problema. Si existen, sin embargo, bastantes publicaciones que

atañen a determinados aspectos concretos, y que, manejadas en conjunto, suministran una cierta idea del tipo y distribución de las lesiones. Estos datos, sin embargo, no incluyen un aspecto decisivo, como es la descripción de la secuencia lesional y, mucho menos, los mecanismos patogénicos subyacentes a la misma. La presente contribución está encaminada al esclarecimiento de estos dos últimos puntos, y el protocolo de experimentación, quizá un tanto diferente de los habituales en este tipo de estudios, ha sido diseñado con este criterio.

Así, se han manejado sustancias no excesivamente tóxicas, a dosis bajas y durante tiempos cortos, en relación con los utilizados por la mayoría de los autores, buscando de esta forma detectar los cambios iniciales y la evolución de los mismos. Esta tarea ha requerido el manejo de un elevado número de animales, ya que aunque el análisis definitivo se efectuó sobre 70 cobayas, los ensayos previos para ajustar las dosis, vías de administración, niveles plasmáticos de antibióticos, etc., requirió el sacrificio previo de 80 animales. Esta fase del experimento, y también las restantes, no hubiesen sido posible sin la extraordinaria colaboración de los Dres. P. Garcia Partida y Ana Perez Cao. El primero, Jefe de la Unidad de Experimentación Animal del Hospital Clínico de San Carlos, nos ha proporcionado un material biológicamente irreprochable, estabulado según una normativa idónea para descartar interferencias ambientales en la función auditiva. La segunda, miembro del Departamento de Farmacología, ha es-

tablecido todos los controles necesarios para evaluar la pureza de las drogas, sus niveles, etc. A ambos quiero rendir aqui testimonio de gratitud.

Otras personas han colaborado decisivamente en la elaboración de esta tesis doctoral, en especial el Dr. M. Merchan, cuya ayuda en determinados aspectos técnicos ha sido decisiva. Los restantes miembros del grupo de trabajo, Dr. P. Gil-Loyzaga, y alumnos, Sres. Gonzalez-Galan, Juiz, Guerra, Garcia Cohen, Ariño y Valor, me han prestado siempre una colaboración inmediata y desinteresada, y sus aportaciones dentro del conjunto de la experiencia son difíciles de exagerar. Igual consideración merecen las auxiliares de laboratorio, Srtas. Bustos y Tejada, así como la Srta. M.A. Esteban por su impecable labor mecanográfica.

Por último, quisiera manifestar mi gratitud a los Profesores Poch Viñals y Poch Broto, de los que he recibido un enorme caudal de información sobre la fisiología y fisiopatología de la audición, y, singularmente a los directores de esta tesis doctoral, Profs. A. Bullón y J. Merchan, gracias a cuyos consejos me ha sido posible sortear los innumerables obstáculos que, para un neofito, suponen el planteamiento y ejecución de un trabajo de investigación.

A ellos, a todos mis profesores, y, en general, a cuantos de alguna forma han contribuido a que hoy pueda aspirar a profesar como universitaria, muchas gracias.

Madrid, 10 de Abril de 1980

A B R E V I A T U R A S

B= ESPIRA BASAL.

C.C.= CELULAS CILIADAS

C.C.E.= CELULAS CILIADAS EXTERNAS.

C.C.I.= CELULAS CILIADAS INTERNAS

E.V.= ESTRIA VASCULAR

M.E.B.= MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO.

M.E.T.= MICROSCOPIA ELECTRONICA DE TRANSMISION.

R.E.= RETICULO ENDOPLASMICO.

R.E.L.= RETICULO ENDOPLASMICO LISO.

V. = ESPIRA APICAL.

2E = 2^a ESPIRA

3E = 3^a ESPIRA

I N T R O D U C C I O N
=====

Como ya se advirtió en el preambulo, el estado actual de nuestros conocimientos sobre la morfología, fisiología y patología del oído interno es enormemente confusa, ya que, pese a la gran cantidad de estudios disponibles (referencias en Merchant, 1979), no existe un cuerpo doctrinal unánimemente aceptado al respecto. Esta situación, que es claramente perceptible al tratar los aspectos ortológicos, lo es más aun en lo que se refiere a la patología y dentro de esta, al campo de la toxicidad por drogas, donde la cantidad de publicaciones clínicas, farmacológicas o histopatológicas es realmente desbordante. Pese a ello, es absolutamente fundamental disponer de unas bases, por precarias que estas sean, sobre las que poder asentar razonadamente la evaluación e interpretación de los resultados del protocolo experimental que se describirá mas adelante. A la consecución de este fin van destinadas las páginas siguientes, en las que se intentará ofrecer al lector una síntesis que permita seguir fluidamente el resto de la memoria. Síntesis ésta enfocada prioritariamente sobre la morfología normal del receptor acústico y sobre el problema genérico de la ototoxicidad, aunque se ha incluido también un breve resumen sobre la farmacología de las sustancias utilizadas. En cualquier caso, es necesario destacar una vez más el caracter orientativo de esta revisión, que no está planteada de forma exhaustiva sino con la intención de ofrecer una panorámica comprensible de los problemas que seran objeto de análisis ulterior, detallado.

MORFOLOGIA NORMAL

El caracol óseo (coclea) es una formación conoidea labrada en el peñasco temporal y cuyo eje de simetría (modiolo o columela) se dirige de atrás a adelante y de dentro a afuera. En el análisis de la compleja citoarquitectura del caracol es costumbre consagrada por el uso emplear el mencionado eje como punto de referencia, considerándose internos (o mediales) aquellos accidentes situados en sus proximidades, y externos (o laterales) los mas alejados. A su vez, los términos superior (apical) e inferior (basal) están referidos al vértice y base de la coclea, que está unida al resto del hueso precisamente a este nivel.

Esta estructura ósea no es maciza, sino que en su interior existe un conducto (conducto endococlear) arrollado en espiral 3'5 veces alrededor del modiolo. El límite exterior del conducto coincide con el límite externo de la coclea ósea, estando representado por una fina lámina de hueso (lamina de

los contornos); en cuanto al límite medial, está integrado por otra formación osea, la lámina espiral, que aisla el conducto endococlear del tejido propio del modíolo, integrado en su mayor parte por fibras del VIII par craneal. En el interior de la lamina de los contornos reside el ganglio de Rosenthal o ganglio espiral, denominación ésta que alude a la disposición de los acúmulos neuronales.

Las estructuras óseas hasta ahora mencionadas se encuentran revestidas, en la cara que mira al conducto coclear, por una serie de tejidos blandos, conocidos como caracol membranoso, y que son los que realmente contienen los receptores. En este caracol membranoso existen dos estructuras, conocidas como membranas basilar y de Reissner, que atraviesan la luz del conducto y que, por lo tanto, dividen a este en 3 segmentos, las rampas timpánica, vestibular y media o coclear. Esta última es la que contiene el receptor acústico propiamente dicho (Órgano de Corti, papila auditiva de Kolliker), y es la que se rá analizada con mas detenimiento. A este efecto, empezaremos comentando sus límites, es decir, la membrana de Reissner y la basilar, y, antes que ella, la estructura que sirve de anclaje de las mismas y que se conoce como limbo espiral interno.

Los estudios iniciales sobre el mismo se deben a Huschke (1825), Corti (1851) y Kolliker (1852), quienes ya establecieron la forma en espolon, con una excavación externa, que corresponde a esta estructura, así como la morfología de la cara superior; en ésta existen profundas depresiones alveolares al-

ternando con crestas que fueron denominadas por Huschke dientes de la audición y que en la actualidad llevan el nombre de este autor. En los alveolos mencionados se alojan unas células de compleja morfología, conocidas, por su localización, como células interdentes; se trata de elementos que, como sucede con otras estructuras de estas recónditas áreas, no han sido motivo de estudio pormenorizado mediante microscopía electrónica hasta fecha reciente (Merchan, J. et al., 1980). Estos análisis, y los mas antiguos de Iurato (1961) y Voldrich (1967) han revelado la existencia de una proyección apical del citoplasma que se abre como un parasol sobre la superficie de la cara apical del limbo, contactando mediante uniones ocluyentes con las prolongaciones de las células vecinas, de suerte que constituye un enlosado continuo de esta cara del limbo. La porción mas basal de esta célula se relaciona con otros dos o tres elementos, que al igual que el caliz que determinan los dientes de Huschke adyacentes, tienden a conformar una estructura piriforme cuya porción más angosta correspondería al punto de nacimiento de la expansión apical antes mencionada. En esta estrecha relación, por empaquetamiento de estos elementos, las células se relacionan muy peculiarmente unas con otras, de manera que existen entre ellas canales intercelulares interrumpidos por uniones comunicantes. Los canales intercelulares, que suelen mostrar contornos laberínticos abocan a la membrana basal, que es la única estructura que separa estos espacios del tejido fibrilar subyacente. Esta membrana, que abraza a todo el

conjunto de células interdentes de un alveolo, presenta zonas de mayor densidad electrónica relacionadas con las estructuras filamentosas del corion límbico.

Otros detalles significativos son el hallazgo de cuerpos, probablemente lisosómicos, en las porciones más apicales del complejo de células interdentes, así como vacuolas abiertas a la superficie de esta misma localización (Iurato, 1961; Merchan, 1979). Por otra parte, según Iurato (1961) las células interdentes son especialmente ricas en aparato de Golgi como hecho más relevante.

El resto del limbo espiral posee una composición mixta (celular y fibrilar) relativamente simple, y ha sido denominado (Merchan, 1979) corion límbico en atención a su aparente similitud con el conectivo subepitelial. Tanto las fibras como las células a este nivel son, para la mayoría de los autores consultados por nosotros, de significado oscuro por no decir desconocido. Sin embargo, existe un área, situada en la región más interna, entre la inserción de la membrana de Reissner y el modiollo, peculiarmente importante por su posible influencia en el metabolismo hidroiónico (Borghesan, 1950, 1957) y que será comentada más adelante, en el apartado específico para la exposición de los intercambios iónicos.

Por lo demás, y como ya se adelantó, el limbo espiral constituye la encrucijada donde vienen a insertarse las membranas que posee el conducto endococlear. A nivel del tercio interno de la cara superior, y partiendo con un ángulo de aproximadamente

madamente 40°, existe una membrana bicelular cuya trayectoria finaliza en la porción superoexterna del conducto endococlear. Fue por primera vez descrita por Reissner (1851), por lo que lleva el nombre de este último autor. Esta membrana, cuya morfología mencionaremos a continuación, delimita, junto con la pared supero-interna del conducto endococlear y la zona vascular epitelial, un compartimento (rampa vestibular) que finaliza en su extremo basal, sobre la ventana redonda y en su extremo apical en un orificio de comunicación (helicotrema) con la rampa timpánica. La membrana de Reissner, por lo demás, modela, junto con la membrana basilar, la rampa coclear.

Desde que Bekesy (1960) estableciera las bases de lo que denominó potencial endococlear (resultados de la medición realizada mediante electrodos implantados en las escalas media y vestibular, con el órgano de Corti en estado de reposo) quedó clara la existencia de un valor de 80 mV a ambos lados de la membrana de Reissner. Este hecho, junto con los análisis de cationes, aniones, proteínas, lípidos, etc., realizados por Rauch (1970) demuestran a todas luces que la membrana de Reissner constituye no sólo una barrera anatómica entre las escalas media y vestibular sino además una barrera iónica, que permite mantener la individualidad de los humores (linfas) que bañan estos espacios, y cuya denominación, basada en la localización de estos, es la de perilinfa para la situada en la rampa vestibular y endolinfa para la de la escala media. En busca de la base morfológica de este hecho, probablemente el mas importan-

te del fisiologismo de esta membrana, algunos autores como Ilberg (1960), Johnson (1971), Machen et al. (1972) y Juiz et al. (1979), han establecido , como fenómeno capital, la existencia de contactos intercelulares del tipo ocluyente situados en la cara bañada por la endolinfa de esta membrana. Por lo demás, otros detalles morfológicos, como la existencia de cuerpos multivesiculares, vesículas de micropinocitosis, membrana basal entre las dos capas monocelulares, protusión de microvellosidades en la cara bañada por la endolinfa, carencia de las mismas en la cara opuesta o extradelgadez de los citoplasmas celulares de los elementos que componen esta última lámina, son datos colaterales que podemos encontrar resumidos en algunos de los trabajos generales referidos al comienzo de este apartado.

La membrana basilar es una estructura filamentosa estratificada en capas, que constituye no solamente el limite entre la rampa media y timpánica sino que ademas constituye el sustentáculo de lo que se considera como el órgano de la audición propiamente dicho u órgano de Corti. Desde que Hemholtz (1868) estableció su teoría sobre la resonancia de las fibras de la membrana basilar y especialmente desde que Bekesy (1941) diera a conocer sus estudios sobre las características de vibración y deformación de este elemento y de su relación con la fisiología de la audición, el estudio de la membrana basilar se ha prodigado por parte de muchos autores, haciendo a esta estructura casi protagonista del proceso de transmisión de la energía sonora (Engstrom, 1955; Speedlin, 1957; Iurato, 1962; Kimura, 1975;

Voldrich, 1979). Los más actuales de estos trabajos, en los que se aplica la microscopía electrónica, demuestran como la membrana basilar está compuesta por 5 capas de las cuales se alternan 2 fibrilares con dos anhistas u homogéneas y una quinta celular, cuyos elementos pueden poseer capacidad fagocítica (Angelborg y Engstrom, 1974).

Una tercera membrana relacionada con el limbo, pero que no constituye límite anatómico ya que presenta un extremo distal libre, es la conocida con la denominación de tectoria, nombre derivado de la palabra latina cubrir, ocultar o proteger. Efectivamente, este elemento, de carácter plenamente fibrilar, se inserta en los dos tercios distales de la cara superficial del limbo espiral, y se proyecta flotando en la rampa media, sobre los dos tercios proximales de la papila auditiva de Kolliker. Su significado funcional, aunque aparentemente evidente (deformación de los polos mundiales de las células ciliadas), es enormemente controvertido: desde Shambaugh (1908), quien la considera como un resonador, hasta Dallos (1975) donde se concluye que podría tener implicaciones en el ambiente iónico de los cilios inmersos en ella, la polémica (De Vries, 1949; Kimura 1975; Lindeman, 1971; Tanaka et al., 1973, etc.) es extraordinariamente enérgica, es especial en lo que atañe al tipo de relación existente entre los cilios y la membrana y a la posibilidad de que esta no posea realmente un límite libre, sino que se inserte sobre la papila auditiva. Por otro lado, no podemos dejar de citar las relaciones entre las células interdentes y

la membrana tectoria, que se realizan por medio de una fina capa densa y homogénea, donde Dohlman (1971) y Merchan (1979) encuentran un proceso de expulsión hacia la tectoria de cuerpos probablemente de carácter lisosómico, quizá responsable de la existencia en el espesor de esta membrana de canales longitudinales.

Apoyado sobre la membrana basilar, y por tanto dispuesto topográficamente en los límites anatómicos de lo que antes hemos denominado escala o rampa media, se encuentra un tapiz celular que, por mostrarse sobreelevado en su porción media y por estar directamente implicado en la producción de la señal acústica, recibe el nombre de papila auditiva de Kolliker. La descripción más detallada de las distintas variedades celulares de esta estructura se debe a Alfonso Corti (1851), que es hoy epónimo del receptor auditivo. La sistematización del órgano de Corti es altamente tributaria de una subdivisión en áreas topográficas tomadas en sentido intero-externo, desde el limbo espiral hasta la lámina de los contornos. Como quedo dicho al hablar de la morfología del limbo espiral, esta estructura posee una concavidad externa. En su interior, y también continuándose sobre el segmento más interno del órgano de Corti, se encuentra un tapiz de células claras, cúbicas y cubiertas de microvillis en su polo mundial. Por su localización topográfica estos elementos son clásicamente conocidos como células del surco interno. Como dato característico y significativo hemos de comentar que son células claras, cuyo citoplasma posee escasa cantidad

de retículo endoplasmico y algunas mitocondrias de disposición periférica (Ludeña et al., 1980,a) Estas células, cuyas características esenciales ya hemos apuntado, poseen dos dispositivos, descritos por primera vez por miembros de nuestro grupo (Gil-Loyzaga et al., 1979). Se trata de una peculiarísima forma de relación con las células interdentes; las células del surco enclavadas en la cara externa del limbo se relacionan doblemente con los complejos interdentes del límite externo, tanto mediante contactos con las células más profundas de estos como a través del labio vestibular, tras la reflexión sobre el de los polos mas apicales de las células interdentes (frontis).

A continuación de las células del surco, y siempre en sentido interno-externo, se encuentran unas células de sofisticada morfología, que por situarse inmediatamente al margen de las células ciliadas internas y casi en los límites de la papila, reciben el nombre de células marginales. Estas células, que poseen un cuerpo celular cilindrico alto (Merchan, 1979), presentan una proyección apical delgada y cubierta de microvellosidades que salta sobre otros elementos celulares a los que luego nos referiremos para acabar fijandose directamente en el polo apical de la prolongación falángica de la célula de sostén de las células ciliadas internas. Esta prolongación es directamente responsable de la sobrelevación progresiva de la papila auditiva, al adoptar su fina proyección apical una inclinación ascendente en sentido interno-externo. Pero con mucho es mas importante a nuestro juicio el curiosísimo polo basal que poseen

estas células. De él mismo parten (Ludeña et al, 1980.b) una serie de expansiones delgadas que se adentran en la basilar, donde modelan una celosía que abraza a las colaterales axónicas que aparecen a partir del último nodo de Ranvier, situado inmediatamente por debajo de la mencionada celosía.

Las células ciliadas que como sabemos quedan subdivididas en dos bandas topográficamente diferentes por situarse en un lado u otro de los arcos de Corti, presentan una morfología bien distinta. Los detalles concretos tanto de las células ciliadas internas (c.c.i) como de las células ciliadas externas (c.c.e) están bien documentados en la abundantísima literatura sobre este punto (Flock y Duvall, 1965; Iurato, 1960; Rosenthal y Engstrom, 1964; Kimura, 1966, 1975, etc.). Dado lo prolijo y lo extenso de los detalles morfológicos de las células ciliadas nos limitaremos a reseñar los puntos más llamativos de las mismas. Las diferencias morfológicas esenciales entre los polos apicales de las c.c.e. y c.c.i. se deben de forma primordial a la distinta forma de disponerse arquitecturalmente los cilios sobre el polo mundial de estos elementos. Así, mientras que los cilios internos constituyen una línea recta, los externos se distribuyen formando una W, si bien esta geometría no es constante a todo lo largo de las espiras sino exclusiva de los tramos más basales de la cóclea (Merchan, 1979; Merchan J. et al., 1979). La inserción de los cilios sobre el polo mundial de las células ciliadas se verifica por una simple prolongación basal del eje central de los mismos, que se incluye en un segmento

homogéneo y finamente granular conocido clásicamente con la denominación de cutícula, termino éste que refleja la superficialidad y rigidez de esta estructura.

Otros detalles diferenciales entre una y otra variedad de células ciliadas se refieren a la cantidad y distribución de las organelas intracitoplásmicas. Así, muchas de las c.c.e. poseen un retículo endoplásmico dispuesto en 1-2 hileras hipolemiales de cisternas aplanadas o bien agrupado en acúmulos esféroideos, asociados a mitocondrias y conocidos con el nombre de cuerpos de Hensen; por el contrario, las c.c.i. lo tienen dispersamente distribuido en todo su citoplasma. Por otro lado, los acúmulos de mitocondrias y de microtúbulos-microfilamentos que poseen las c.c.e. en su región infranuclear son tan prominentes que incluso se identifican, por su eosinofilia, con microscopia de luz, recibiendo, en atención a su descubridor, el nombre de cuerpo de Retzius. Por lo demás, los detalles referidos a los especialísimos dispositivos sinápticos de las células ciliadas escapan, por lo extenso, a una sucinta descripción introductoria de estos elementos, si bien podemos encontrarlos extensamente recogidos en los trabajos de Spöndlin (1968, 1970, 1979) y de Smith (1957).

Al igual que las células ciliadas, las células de Deiters difieren notablemente según las estudiemos en la zona mas externa o mas interna a la región de los pilares (arcos de Corti). Las de la región interna, por constituir poco menos que un aglutinante celular de las fibras nerviosas del plexo espiral inter

no y del cuerpo de las c.c.i., poseen tan intrincado contorno y difícil observación que han sido muy pocos los autores modernos que hayan intentado sistematizar su morfología; si conocemos, sin embargo, un hecho extremadamente importante para su identificación como es la gran claridad de su citoplasma y la existencia intracelular de algunas y dispersas cisternas de retículo endoplásmico y mitocondrias (Merchan, 1979).

Como es sabido, un caracter diferencial en extremo evidente es el que se refiere a las relaciones de las células de Deiters con las c.c.i y c.c.e. respectivamente. Asi, sabemos que mientras en la región interna la célula de soporte cubre practicamente todo el cuerpo de las c.c.i y aflora, mediante una lengüeta de polo apical rico en microvillis, precisamente entre la prolongación apical de la célula marginal y c.c.i., en la región externa la relación y el afloramiento hacia la escala media es totalmente diferente. Segun lo que conocemos desde las aportaciones de los autores clásicos, las células de Deiters externas, también denominadas células falángicas, reciben este nombre precisamente por poseer unas proyecciones filiformes ascendentes que afloran entre los polos mundiales de las células sensoriales (falanges). Las falanges de Deiters poseen en su interior un eje de microtúbulos y microfilamentos que finaliza abriéndose en abanico en el polo superficial (Iurato, 1960), constituyendo recias estructuras de anclaje de los polos apicales de las c.c.e., ya que el eje se asocia a zónulas ocludens entre estos dos componentes. De este modo tenemos unas estructuras que por su loca-

lización topográfica y su especial morfología son clásicamente concebidas como estructuras de soporte, si bien, como apuntan Vinnikov y Titova (1964) es posible admitir una posible misión trófica aparte de la mecánica para estos elementos. Esta idea , mas desarrollada por Merchan (1979) a la luz de los estudios de Edstrom y Mattson (1972) y Peters (1976) sobre la fisiología de los microtúbulos, parece tener una base cada dia mas firme.

Dentro del concepto de sistema de soporte debemos incluir no solo a las células falángicas externas sino además, y con mas razón, a las células de los pilares. Como es clásicamente sabido, las células de los pilares, constituyen un sistema de columnas que se organizan con tendencia a formar arcos de medio punto, y que poseen tres áreas netamente diferentes, equiparables a la base, fuste y capitel, y que denominamos en terminología histológica pie, cuerpo y cabeza. Tanto en el pie como en la cabeza se observan refuerzos de densidad y textura similar a las cutículas de las celulas ciliadas y que se muestran unidas por un robusto haz de microtúbulos y microfilamentos ya descritos por Angeborg y Engstrom (1973).

Finalmente, las ultimas estructuras celulares apoyadas directamente sobre la membrana basilar son elementos de aspecto globuloso, citoplasma claro y diferente altura conocidos por su localización como células de la región externa. Dentro de ellas se distinguen dos diferentes categorias, unas localizadas mas medialmente, conocidas como células de Hensen y poseedoras en su interior de abundantes inclusiones lipídicas (Merchan et al.,

1980) y otras mas externas, con mayor cantidad de organelas conocidas como células de Claudius. Bajo estas últimas la membrana basilar se abre en abanico para constituir el ligamento espiral externo; un corto segmento del mismo está recubierto no por las células de Claudius sino por un pequeño acúmulo celular para el que Duvall (1969) ha acuñado el término de "peg cells". Estos elementos, agrupados constituyendo yemas o papilas, se introducen profundamente en el seno del ligamento espiral interno. Inmediatamente por encima de ellas, la lamina epitelial se abomba hacia la luz de la rampa media, modelando una prominencia (prominencia espiral) que contiene un grueso vaso central (vas prominens) rodeado de un tejido especial, que luego describiremos y que reviste las zonas profundas de la estria vascular.

La capa celular de revestimiento de la prominencia espiral se continua insensiblemente con un paquete celular de gran densidad óptica y electrónica, que en forma de media luna termina por cerrar la pared externa de la escala media, el finalizar justamente en la inserción sobre este área de la membrana de Reissner. Esta estructura, extraordinariamente rica en vasos se conoce con la denominación de estria o estrias vasculares y fue descrita inicialmente por Corti (1851) y posteriormente por Eichler (1892) y Siebenmann (1894) quienes la aplicaron este termino por el aspecto que ofrecía al estudiarla con microscopia de luz. Ya en nuestra época Engstrom (1955) y Smith (1957), conceden un papel preponderante a esta estructura en la secreción de la endolinfa y la sistematizan determinando una constitución

por estratos, en la que se enumeran estos en sentido interno-externo. De este modo, podemos considerar una capa bañada por la endolinfa, de gran densidad electrónica y que envía hacia áreas más profundas un sinfín de prolongaciones que se interdigitan estrechamente con las células inmediatamente subyacentes, ricas en mitocondrias e igualmente de forma irregular y tortuosa, pero que poseen mucha menor densidad a los electrones que la capa anterior. Finalmente, en el área más profunda existiría una tercera capa de células profusamente interdigitadas entre sí, y ligadas por un rosario constante de minúsculos desmosomas, que terminan por conformar el denso paquete celular que conocemos como estria vascular y que, en resumen posee, como características fundamentales, la gran cantidad de vasos, la carencia absoluta de intersticio y la extrema irregularidad y capacidad de interdigitación de las células que la componen.

El área delimitada por la estria vascular y de la prominencia, ligamento espiral externo y lámina de los contornos, es decir, la correspondiente a un tejido intersticial o de relleno que une estrechamente las células constituyentes de la escala media con los componentes del caracol óseo, corresponde a lo que Hamilton (1967) denominó tejido perilinfático y más recientemente miembros de nuestro grupo (Merchan, 1979) han denominado corion, debido a que constituye un sustrato fibrilar y vascularizado de las células de revestimiento. Aunque su localización corresponda a todo el contorno óseo del conducto endoclear, el área donde más abunda y es más fácilmente estudiable

corresponde a los límites enunciados anteriormente, que conforman lo que Merchan (1979) denomina compartimento externo. Este área, que conforma semilunas adaptadas a la morfología general del conducto endococlear, llamó ya la atención a Shambaugh (1928), pero solamente en lo referido a las células del surco externo y a los elementos del ligamento espiral externo, limitándose a citar la existencia de un tejido de relleno que ocupa el compartimento al que nos referimos. En nuestra época, Takahashi y Kimura (1970) han determinado la existencia de un tejido a este nivel con células de contorno irregular y fibras abundantes en el intersticio. Este último autor las clasificó en fibrocitos de tipo I y II, si bien en estudio detallado de las mismas (Spoendlin, 1967; Merchan, 1979; Ibañez, 1980) muestra mas diferencias que analogías entre estas células y las del tejido conectivo.

En cuanto a la naturaleza del humor que rellena la rampa media, conocemos desde las mediciones de potenciales realizadas por Bekesy (1952) y con mucha mayor certeza desde los estudios cualitativos de Citron (1956) que se trata de un fluido en todo diferente al de las escalas timpánicas y vestibular. Pero es indudable que además de ser diferente a la perilinfa posee características intrínsecas absolutamente peculiares, ya que los aportados por Citron (1956) muestran una composición iónica (potasio, 144 mEq./l; sodio, 16 mEq./l) semejante a líquido intracelular, salvo en lo referente al ion cloro, cuya concentración (107 mEq./l) se asemeja a la del líquido cefalorraquí-

deo y de la sangre. Estos datos, completados y confirmados por Rauch (1970), han puesto en primer plano la necesidad de buscar un sustrato morfológico para comprender el significado de este líquido de caracteres iónicos absolutamente especiales. Indudablemente han de existir al menos dos factores para el mantenimiento contragradiante de una elevada concentración de iones K. El primero es la existencia de un dispositivo, identificado en la estria vascular (ver referencias en Sugar, 1972), capaz de concentrar potasio fuera de la célula. El segundo corresponde a un mecanismo para evitar pérdidas por difusión de este mismo ión, y posiblemente corresponda (Rodriguez-Echandia, 1965; Merchant, M. et al., 1979) al sello continuo del espacio intercelular existente a nivel de todos los contactos celulares entre las células que revisten la escala media, algunas de las cuales pueden estar implicadas además, en estos mecanismos activos (Merchant, 1979).

OTOTOXICIDAD

Los trastornos laberínticos de origen tóxico deben ser tan antiguos como el uso de la hierba de hormiguera y de la quina por la medicina americana precolombina, aunque desgraciadamente la documentación sobre los médicos que señalaron los efectos nocivos del aceite de quenopodio y de los alcaloides de la quina, es muy escasa. Por el contrario, las referencias contemporáneas a toxilabrintopatías yatrogénicas son cada vez más abundantes, fruto sin duda de la creciente exposición de grandes masas de población a sustancias terapéuticas utilizadas un tanto arbitrariamente. De entre estas sustancias, quizá las más significativas sean los antibióticos en especial los aminoglicosidos, empleados no solo como tuberculoestáticos sino, y so-

bre todo, en el tratamiento de las cada dia más frecuentes infecciones intercurrentes. En la actualidad existen mas de 40 antibióticos que pertenecen a este grupo (amino-glucosidos), los cuales se incrementan continuamente con nuevos hallazgos farmacológicos, y si bien notodos ellos tienen igual potencia tóxica ni semejante selectividad por los diversos sectores del laberinto, la mayoría de ellos producen alteraciones a nivel del oído interno. En las páginas siguientes intentaremos una exposición lo mas completa posible de las mismas, advirtiéndole de antemano al lector que se trata de un conjunto de referencias enormemente farragoso por la gran cantidad de variables que contiene el asunto (toxico, dosis, vias de administración, especie animal, tiempo de supervivencia, técnica de estudio, etc.). Sin embargo, su exposición detallada se considera imprescindible, no solo para rendir una información lo mas objetiva posible sino también porque muchos de estos resultados habrán de manejarse en la discusión. Por lo demás, la exposición de los hechos tal cual son (aunque sean contradictorios) parece un requisito previo indispensable para el que escribe y un derecho inalienable del que lee, y es esta la razón básica de que en modo alguno se haya intentado paliar la dispersión de datos al uso.

Hinsaw y Feldman (1945) fueron los primeros en comunicar la existencia de trastornos laberínticos en pacientes tratados con estreptomycin por tuberculosis pulmonar. En el caso de la Kanamicina y Gentamicina, su acción ototóxica fue demostrada por primera vez por Frost et al. (1959) y por Black et al. (1963) respectivamente.

Hasta los estudios de Berg y Causse en 1949, las lesiones anatómicas responsables de alteraciones auditivas se situaban a nivel de los núcleos centrales preferentemente, siendo estos autores los que llamaron la atención sobre la localización de las lesiones inicialmente a nivel de los receptores periféricos. Sin embargo, la mayoría de los autores están de acuerdo en el hecho de que las primeras estructuras en lesionarse son las células sensoriales (Wersall et al., 1969; Gee et al., 1969; Ylikoski, 1974, etc.). A este respecto Kohonen (1965), Brumment (1972), Wersall et al. (1973), Ylikoski (1974), Jarlsted y Bagger-Sjosback (1977), por no citar más que unos cuantos, encuentran lesiones fundamentalmente a nivel de las c.c.e., cuyas características comentaremos posteriormente, y Hawkins et al. (1952) y McGee et al. (1969), observan alteraciones a nivel de las c.c.i. en casos en los que las c.c.e. no mostraban ningún tipo de lesión. Benitez et al. (1962) en dos pacientes tratados con Kanamicina, las alteraciones más manifiestas las encuentra en las c.c.i., aunque en algunas áreas las c.c.e. estaban alteradas y las c.c.i. normales. Por otro lado, Hawkin y Johnson (1968) y Hawkins (1973) han observado alteraciones morfológicas en estrias vasculares, ligamento espiral y surco externo antes de que apareciesen las lesiones a nivel de las células sensoriales, y Kellerhals et al. (1967) tras la administración intratimpánica de Kanamicina han descrito cambios degenerativos precoces en las neuronas del ganglio espiral; Reddy y Igarashy (1962) observaron las primeras alteraciones a nivel de las células de

sóporte, siendo estas, según sus hallazgos mas susceptibles de lesionarse que las células ciliadas.

Precisamente, uno de los problemas mas debatidos en la literatura es aquel que hace referencia al conocimiento exacto de cuales son las primeras estructuras en lesionarse a nivel citológico, hecho importante a la hora de discutir el mecanismo de acción ototóxico. Aarno Kohonen (1965) ha valorado el efecto de tres antibióticos aminoglucósidos (Kanamicina, Gentamicina y Neomicina) encontrando como primer fenómeno patológico en las cócleas de los animales tratados cambios nucleares en las c.c.e. Al principio, los núcleos aparecen hinchados, rompiéndose posteriormente y dispersándose la cromatina por el citoplasma. Por otra parte, Voldrich (1965) además de alteraciones consistentes en translación de los núcleos hacia el polo cuticular con posterior picnosis y cariólisis, encuentra gran cantidad de cuerpos de Hensen distribuidos por el citoplasma de las células ciliadas externas. Fenómenos similares han sido descritos por Beck y Krahl (1962) y Ostyn and Tyberghein (1968).

Según Wersall et al. (1969) y Debain (1969), los primeros signos degenerativos de las células ciliadas externas, se observan en las mitocondrias, observándose estas degeneradas y cuerpos densos en el citoplasma celular, algunos de los cuales han sido interpretados como lisosomas por Lundquist y Wersall (1966). Ylikoski (1974) por su parte, encuentra como lesión precoz un incremento de cuerpos oscuros esferoideos debajo de la cutícula, y también mitocondrias degeneradas y un material fibroso a este

nivel. La disposición regular de las membranas fenestradas en la parte lateral de las células estaba a menudo interrumpida en los estadios iniciales de degeneración; estas membranas desordenadas en el citoplasma, mostrando áreas de condensación y rarefacción. Hallazgos similares han sido descritos por Lim (1976), Bagger-Sjoberg y Wersall (1978), Duvall y Wersall (1964) y Harpur y Bridges (1979). Por otro lado, Darrouzet y Guilhaume (1974) en un estudio de la toxicidad de la Kanamicina día a día encuentran, en el tercer día de intoxicación la aparición, a nivel del polo apical de las c.c.e, de un aumento considerable del aparato de Golgi, que comienzan a producir lisosomas al séptimo día.

Hawkins y Engstrom (1964) han estudiado las cocleas de animales tratados con Kanamicina, encontrando como primer hallazgo morfológico desestructuración ciliar de las células sensoriales. Sin embargo, Harpur y Bridges (1979), con Gentamicina, observan células ciliadas externas con signos de alteración pero con la cutícula y los cilios normales. Kohonen (1965) sin embargo, encuentra caída de cilios sobre las c.c.e. en animales tratados con Kanamicina, desapareciendo la W ciliar, que se convierte en una hilera irregular en la cual los cilios apuntan en distintas direcciones. Esta alteración sería secundaria a las alteraciones citoplásmicas de estas células, produciéndose, posiblemente por un cambio de la densidad normal de la cutícula de las células sensoriales, a cuyo nivel se insertan las raíces ciliares. Además, la pérdida completa de cilios no es característica de estadios tempranos de degeneración, ya que se encuentran en células

severamente degeneradas. Datos similares han sido publicados por Ylikoski (1974), aunque en algunos casos encuentra desorganización ciliar en estadios tempranos de degeneración. Igualmente Wersall et al. (1973) encuentran los cambios ciliares secundarios a las alteraciones citoplásmicas de las células, describiendo distintos estadios de alteración ciliar. La aparición de protrusiones en las superficies de los cilios, así como el contacto y fusión ciliar son descritos por este autor, cuya interpretación, por lo demás, no es concluyente. En cualquier caso, al menos un dato parece unánimemente aceptado, a saber, que las lesiones se localizan inicialmente a nivel del polo apical de la célula y que lo primero que se observa es la aparición de cuerpos densos, cuya interpretación, en cuanto a las organelas citoplásmicas que les dan origen, no siempre está clara.

Otro hallazgo encontrado a nivel de las c.c.e. es la disminución en el contenido de ribosomas (Kohonen, 1965; Ylikoski, 1974), hecho que generalmente se produce cuando se alteran las membranas fenestradas. Posteriormente se vacuoliza el citoplasma celular, presentando aumento de vesículas y receptores de la membrana celular.

Wersall et al. (1973) en animales tratados con Gentamicina encuentra una disminución de ribosomas en los animales tratados con las dosis más bajas y durante menos tiempo de administración. En todos los animales encuentran gránulos densos, vacuolas y degeneración mitocondrial, y en la zona más dañada, protrusiones celulares e incluso desaparición de c.c.e. Las al-

teraciones ciliares las observan en un segundo estadio, al mismo tiempo que hinchazón nuclear o picnosis. Posteriormente la membrana plasmática se altera, vertiendo al exterior el contenido citoplasmico. También encuentran fusión de células ciliadas vecinas: inicialmente se produce una disminución de la distancia entre las células adyacentes, con formación posterior de contactos de ciertos puntos de la membrana plasmática y finalmente desaparece la membrana que queda entre ambas.

Darrouzet y Guilhaume (1974) realizan un estudio progresivo de las lesiones que aparecen en el órgano de Corti. El primer hallazgo encontrado por estos autores, como ya ha sido comentado anteriormente, es la presencia de aparato de Golgi en la región apical de las c.c.e. y posteriormente lisosomas en regiones vecinas. Los lisosomas se van haciendo progresivamente mas numerosos y voluminosos, siempre en la zona subcuticular de las c.c.e. Posteriormente aparece un fenómeno nuevo consistente en la aglutinación de los esterocilios, tendiendo a unirse unos con otros. Después se observan fenómenos de estallamiento celular en la parte más debil de la placa cuticular, donde se suele encontrar el corpúsculo basal, y el contenido celular se vierte a la endolinfa. Con respecto a los ribosomas, al igual que otros autores que hemos comentado anteriormente, encuentran una disminución de los mismos, coincidiendo con imágenes de células explotadas y por tanto un estadio no muy temprano.

También se ha demostrado, con métodos histoquímicos, que las primeras alteraciones aparecen a nivel de las c.c.e. Asi,

Koide et al. (1966), en un intento de explicar la sensibilidad de las distintas células del órgano de Corti, estudian la actividad de sucinodeshidrogenasa y DPN-diaforasa en animales tratados con distintas drogas (estreptomicina, dihidroestreptomicina, kanamicina, neomicina y quinina). Estos autores encuentran una alteración más manifiesta e importante a nivel de las c.c.e., que por regla general se acompañan de lesión en terminaciones nerviosas de las áreas basales, como posteriormente comentaremos. Por otra parte, Ishii, en 1968, con métodos histoquímicos, estudia la actividad de la fosfatasa ácida, B-glucoronidasa y N-acetil-B-glucosaminidasa en animales tratados con 250 mgr/Kg./día de Kanamicina. Estos enzimas lisosómicos incrementan su actividad a nivel de las c.c.e. incluso antes de que se puedan apreciar las alteraciones morfológicas a este nivel. Ilberg et al. (1971) introduce por vía estapedial una solución osmolar de dihidroestreptomicina tritiada, observando la máxima acumulación de este antibiótico en las células sensoriales a nivel del citoplasma, estando en todo momento la región nuclear libre. Jarstedet y Bagger-Sjoback (1977) estudian los cambios en el contenido de RNA en animales tratados con Gentamicina, observando incluso desde el primer día (con una sola dosis) una disminución en el RNA de las células ciliadas y células ganglionares. Esta disminución del RNA es progresiva de tal forma que a los 3 días la disminución es de aproximadamente 30% con respecto a los controles y a los 6 días la disminución alcanza el 50%.

Por lo que respecta a las c.c.i., los hallazgos descritos son, con mucho, mas dispares que los de las c.c.e. Lindsay et al. (1960) encuentra lesiones más intensas a nivel de las c.c.i. en cocleas tratadas con Neomicina, y Hawkins et al. (1952) encuentran datos experimentales similares a los descritos en casos humanos. Sin embargo, parece existir un consenso amplio en el sentido de que las c.c.i. son mas resistentes que las c.c.e. incluso existen descripciones de amplias lesiones de c.c.e. (con incluso su desaparición total) en tanto que las c.c.i. aparecen indemnes o escasamente lesionadas (Farkashidy et al., 1963; Ostyn and Tyberghein, 1968). Las ilustraciones y descripciones a este respecto son escasas, así como su interpretación, correlacionándolas, por regla general, con la innervación tan peculiar que presentan estas células. Este fenómeno por ser mas propio de la discusión, sera comentado más ampliamente en este apartado.

Pero no solo se lesionan las células sensoriales sino que han sido descritas alteraciones a otros niveles y en primer lugar hemos de analizar la degeneración de los elementos neurales. Las lesiones degenerativas neurales son en principio, de acuerdo con las concepciones ya clásicas sobre el tema, secundarias a las de las células sensoriales. Sin embargo, existen comunicaciones que indican que pueden ser previas, simultáneas, o no aparecer en ningun momento, incluso cuando las células ciliadas han degenerado completamente.

Los primeros datos referentes a la degeneración neural datan de Wittmaack, quien en 1907 demostró que el ruido provoca una destrucción del órgano de Corti con degeneración neural en la lámina espiral ósea y ganglio espiral. Posteriormente, Hoesli observó, en 1912, que las células ciliadas internas eran más resistentes al trauma acústico, degenerando las células ganglionares después de haber sido destruidas las c.c.e. Las primeras observaciones de lesiones neurales degenerativas en animales intoxicados con antibióticos fueron las de Ruedi et al. (1953), Riskaer et al. (1956), Hawkins (1959), Friedman y Bird (1961) y Catalano et al. (1961).

Kellerhals et al. (1967) encuentra alteraciones a nivel de las neuronas del ganglio espiral que preceden a las lesiones en las fibras nerviosas de la lámina espiral ósea e incluso en algunas ocasiones, a las de las células sensoriales, con lo cual los antibióticos en este caso la Kanamicina actuaría en dos sentidos por una parte, en las c.c. y por otra directamente sobre el ganglio. Catalano et al. (1961), por su parte, encuentran lesiones y pérdidas de células ganglionares en las dos espiras mas basales de la coclea, así como lesiones a estos niveles de células sensoriales, fundamentalmente c.c.e., pero Kohonen (1965) no observa alteraciones a nivel del ganglio espiral; sin embargo, algunas terminaciones nerviosas de las células ciliadas externas (y posteriormente las terminaciones nerviosas de las células ciliadas internas) aparecen con gran frecuencia degeneradas. Estos hallazgos aparecen en etapas posteriores a la

degeneración de las células ciliadas, no encontrando nunca daño neural sin pérdida de las correspondientes células neurales. Farkashidy et al. (1963) ha obtenido resultados similares, no encontrando lesión a nivel del ganglio espiral, pero si a nivel de las terminaciones nerviosas de las c.c.e., estando bien preservados, por regla general, el haz espiral interno y el haz espiral externo. Engstrom (1966) con la técnica de impregnación de plata de Maillet, ha comprobado los hallazgos de Farkashidy, demostrando la indemnidad del haz espiral interno y externo. Las fibras radiales, junto con sus terminaciones nerviosas, constituirían un sistema especialmente sensible a los ototóxicos, en tanto que el haz espiral interno, haz espiral del tunel y haz espiral externo serian menos vulnerables.

Ostyn and Tyberghein (1968) han planteado un experimento con varios antibióticos con el proposito de establecer la localización de las lesiones causadas por dichos antibióticos en el oido interno y el momento de su aparición desde el punto de vista cronológico. Por lo que respecta a los elementos neurales, las lesiones del ganglio espiral parecen secundarias a las de las c.c.e. Después de la destrucción de las células sensoriales, y en especial después del completo colapso de toda la arquitectura del órgano de Corti, las células del ganglio espiral degeneran, observándose una disminución en el número de fibras nerviosas.

Igualmente, Ylikoski et al. (1974) encuentran cambios en las fibras nerviosas mucho mas tardiamente que las lesiones

observadas en las células ciliadas. Sin embargo, en algunos animales existían alteraciones neurales precoces, incluso cuando las células sensoriales parecían normales y, dado que estas lesiones consistían en hinchazón y tumefacción, no queda claro si se trata de lesiones reales o bien de imágenes artefactuadas debidas a defectos de fijación. En cuanto a las alteraciones en las neuronas del ganglio espiral, mas del 50% eran mielínicas, y podían ser consideradas como células ganglionares tipo III de la clasificación de Spoendlin (1973).

Un hecho de gran importancia y que es preciso señalar, pese a que ha sido parcialmente indicado en las páginas precedentes, es la clara correspondencia entre la destrucción de las c.c.i. y la degeneración de las fibras nerviosas en la lámina espiral ósea y en el ganglio espiral. Kellerhals (1967) observó correspondencia manifiesta entre las lesiones de las células ganglionares y de las c.c.i. y Bredberg (1968) encontró siempre ausencia total de fibras en aquellos segmentos en los que se había producido una destrucción completa de células sensoriales. En aquellos casos en los que existía conservación de las c.c.i. aunque las c.c.e. hubieran desaparecido, nunca encontró alteraciones a nivel de las fibras nerviosas en el sector correspondiente de la lámina espiral ósea. Por otra parte, Spoendlin (1973) ha hallado resultados similares en trauma acústico. Otros autores como Schuknecht (1953) y Spoendlin (1966) han encontrado experimentalmente cambios degenerativos en el ganglio espiral, relacionados con la extensión del daño sufrido por parte

de las células de sostén, fundamentalmente con las células de los pilares, y Hawkins y Johnson (1968) y Lawrence y Johnson (1973) han encontrado hechos similares en el hombre.

Histoquímicamente, Ishi et al. (1968) ha descrito, en estadios iniciales, aumento de la actividad en determinados enzimas lisosomales neuronales en animales tratados con Kanamicina; este aumento disminuye considerablemente a las 4 semanas, mostrando estas células aspecto normal. Este hecho ocurría fundamentalmente a nivel de las espiras superiores, observándose por regla general las células ganglionares de la basal completamente normales.

Lim (1976), tanto con trauma acústico como con antibióticos, encuentra alteración de las células sensoriales y de las fibras nerviosas mielínicas y amielínicas en la lámina espiral ósea, siendo las células tipo I las más lesionadas; además de este hecho observan aumento en el número de fibras amielínicas comparándolo con animales controles, al igual que ocurre tras la sección del VIII par, excediendo la población de células ganglionares, y sugiriendo, por tanto, regeneración neural en el caso de los animales tratados con Kanamicina.

Un punto que ha sido objeto de muchas discusiones fisiológicas es el que concierne al mantenimiento de la endolinfa y al posible papel en la toxilaberintopatía de la estria vascular. Sin embargo, los datos morfológicos existentes a este respecto son escasos. Las lesiones iniciales se pueden observar a nivel de las células cromófilas marginales, que se van

haciendo progresivamente hipercromáticas (Ostyn y Tybergheim , 1968) hasta que desaparecen, estrechándose considerablemente las estrias vasculares (Voldrich, 1965) . Algunos autores, como Lim (1976) , solo encuentran ligera hinchazón a nivel de las células intermedias, incluso en estadios en los que las lesiones de las células sensoriales eran bastante manifiestas. Por otro lado, Hawkins (1973) describe cambios morfológicos en la estria vascular, ligamento espiral y sucro externo que son previos a las alteraciones de las células ciliadas. De todas formas, pocos han sido los autores que han estudiado la estria vascular y menos los resultados obtenidos.

Las alteraciones de los elementos de sostén (fundamentalmente de las células de Deiters, Hensen y Claudius) se presentan en estadios avanzados de degeneración del órgano de Corti, cuando la mayor parte de las células ciliadas ya han desaparecido (Ostyn y Tybergheim, 1968; Brummett et al., 1972; Ylikoski, 1974). Sin embargo existen algunas comunicaciones, como las de Hawkins y Johnson (1968) y Reddy y Nagarashy (1962) que informan sobre la posibilidad de que la Kanamicina induzca cambios degenerativos precoces en las células del surco externo y limbo espiral, sugiriendo que las células de soporte, sobre todo las células de Claudius, serían mas sensibles a estas drogas que las células sensoriales. Brummett et al. (1972) encuentran destrucción de los elementos de sostén en animales tratados con grandes dosis de antibióticos, y Darrouzet y Guilhaume (1974) en su estudio de las lesiones precoces producidas por

Kanamicina encuentra como primer dato lesional la presencia de lagunas citoplasmáticas. Ostyn y Tyberghein (1968) describen colapso de las células de Deiters, Hensen, Claudius y pilares, siendo las células de Boettcher mucho mas resistentes, permaneciendo incluso en estadios últimos de degeneración cuando el órgano de Corti ha sido reemplazado por un epitelio cúbico inespecífico.

Dada la capacidad tonotópica de análisis frecuencial que tiene la coclea, el problema de la localización topográfica de las lesiones reviste un considerable interés. La mayoría de los autores han encontrado un patrón lesional en este sentido aunque no todos coinciden con el mismo. Asi, Berg y Causse, en 1949, señalaron que las espiras basales eran mas sensibles a la acción de los antibióticos y que por lo tanto se lesionaban más precozmente. La mayoría de los autores están de acuerdo con este hecho (Kohonen, 1965; Brummett et al., 1968; Wersall et al., 1969; Wright, 1969; Debain et al., 1969; Ylikoski, 1974; Russell et al., 1979) y además con al hecho de que progresan en sentido ascendente. En realidad esto no se pone de manifiesto hasta estadios de intoxicación relativamente moderados ya que en las fases más precoces se observa unicamente lesiones celulares distribuidas al azar en cualquiera de las espiras (Kohonen, 1965; Ylikoski, 1974).

Kohonen (1965) encuentra los primeros signos de perdida sistemática a nivel de las c.c.e. de la espira basal, encontrandose a la vez algunas células aisladas degeneradas en las demas

espiras. En el siguiente estadio de degeneración casi todas las c.c.e. de la espira basal aparecen destruidas y la segunda espira comienza a presentar lesiones a nivel de las dos hileras mas internas de las células ciliadas externas y a nivel de la primera hilera de c.c.e. en tercera espira y vértice. Posteriormente, las tres hileras de c.c.e. de la basal y segunda espira se encuentran degeneradas, permaneciendo intactas las dos hileras más externas de la tercera espira y vértice. La degeneración de las c.c.i. también presenta un patrón definido, opuesto al de las c.c.e., comenzando la degeneración en el vértice y progresando sucesivamente hacia espiras mas bajas, aunque su degeneración comienza mas tarde.

Ishii (1968) encuentra datos similares en lo que respecta al patrón topográfico lesional de las c.c.e.; sin embargo, el patrón de las c.c.i. no es el mismo que el expuesto por Kohonen sino que según este autor, sigue el mismo camino que el de las c.c.e. Por otra parte, Hawkins et al. (1969) describen como punto más susceptible de lesión dentro del órgano de Corti, la parte mas superior de la espira basal en lo que respecta a las c.c.e. y la segunda espira para las c.c.i. Ilikoski (1974) observa como primera lesión hinchazón y deformación de los cuerpos celulares y de los núcleos de la primera hilera de c.c.e. de la espira basal, progresando la degeneración en sentido ascendente, es decir hacia el apex, y en sentido radial, afectándose primeramente la primera hilera de c.c.e., posteriormente la segunda hilera y por último la tercera hilera de cada espi-

ra. Estas alteraciones preceden a las de las c.c.i. y elementos de sostén, apareciendo, por regla general lesiones de c.c.i. en espiras superiores y de células de Deiters en espiras bajas.

Harpur y Bridges (1979) aun aceptando que la lesión comienza en la espira basal y progresa hacia el apex, encuentran que a nivel de la tercera y cuarta espira la degeneración parece empezar a nivel de la tercera hilera de c.c.e., observando sistemáticamente lesiones en esta hilera a nivel de la segunda hilera de c.c.e. mientras que la primera hilera permanece intacta. Por lo que respecta a las c.c.i., también encuentran mayor lesión a nivel de espiras apicales. De todas formas existe gran variación en la frecuencia y extensión de estos patrones de degeneración, incluso con la misma dosis de Gentamicina.

Es curioso observar como bajo diversas situaciones patológicas (trauma acústico con ruido blanco, envejecimiento, e incluso malformaciones hereditarias), este patrón degenerativo se mantiene con una cierta constancia. Estos hechos sin duda, son los que han sugerido a Hawkins (1973) que las lesiones cocleares siguen independientemente del tóxico empleado, un patrón estereotipado, una regla, por lo demás, muy común en histología, ya que es bien conocido que el polimorfismo lesional es inversamente proporcional al grado de especialización del órgano. Sin embargo, esta afirmación, que parece particularmente cierta en determinadas circunstancias, no puede mantenerse de una forma indiscriminada, ya que existen circunstancias en las que el patrón morfológico de lesión es diferente.

Anniko (1976) empleando arseniato sódico señala que las lesiones comienzan a nivel de la espira apical y que se extienden progresivamente hacia abajo. Y a este nivel comienza la degeneración no solo de las c.c.e. sino también de las c.c.i. Las c.c.e. en las proximidades del helicotrema son las primeras afectadas y la degeneración se extiende hacia abajo en dirección a la ventana redonda. La extensión de los cambios depende, naturalmente, de las dosis y de la duración del tratamiento. Las c.c.i. parecen mas resistentes a la acción de la droga, ya que hasta que las c.c.e. no han completado su degeneración no comienza la de las c.c.i. Sobre la susceptibilidad de las diferentes hileras de c.c.e. dentro de una misma espira, las c.c.e. de la segunda y tercera hilera parecen ser mas sensibles que las de la primera. Esto se puso particularmente de manifiesto en aquellos animales que habían recibido una sola dosis, resultando en los mismos un porcentaje de lesiones en las hileras citadas mas elevado que en la basal. Con respecto a este último punto, resultados similares han obtenido Lim (1976) y Harpur y Bridges (1979) para las espiras superiores.

Existen pocas menciones en la literatura referentes a las lesiones iniciales de las espiras apicales de la coclea, pudiendo citar, además de la expuesta anteriormente, a Alford y cols. (1965) quienes señalaron que las oclusiones de las ramas terminales de las arterias laberínticas provocan mayores alteraciones en las espiras apicales que a otros niveles; Bernstein y Silverstein (1960) producian lesiones en la región apical de

la coclea del gato mediante obstrucción de la arteria basilar. Komut y Lindsay (1972) describieron lesiones predominantes en las espiras apicales en casos en los que existía un hidrops endolinfático idiopático.

El mecanismo de intoxicación por los antibióticos ototoxicos no está completamente dilucidado a pesar de los numerosos trabajos electrofisiológicos, histoquímicos y electromicroscópicos que se han dedicado al problema en los últimos 30 años. Dentro de las numerosas teorías sobre la acción tóxica de los antibióticos aminoglucósidos, ninguna explica satisfactoriamente por qué son tóxicos para el oído interno y no para otras estructuras, hablandose en general unicamente de la particular sensibilidad de las células sensoriales del órgano de Corti.

Los trabajos de Voldrich (1965), Stupp et al. (1967), Debain (1969) e Ylikoski (1974) son bastante precisos a este respecto. Las investigaciones de estos autores han puesto de relieve que la vida media de estos antibióticos en los líquidos laberínticos es muy superior a la que se produce en cualquier otro órgano, incluido el riñón, y es posible admitir que la mayor potencia tóxica de los diferentes fármacos del grupo están en relación con su mayor permanencia a nivel del espacio endolinfático.

El trabajo de Stupp et al. (1967) para la Kanamicina es enormemente significativo. La vida media de la Kanamicina en el oído interno es mucho más larga que en otros órganos; así, mientras que la vida media de este antibiótico en sangre es alrede-

dor de 85 minutos, en los fluidos laberínticos es cerca de 15 horas. Cuando, empleando una inyección única, se dobla la dosis aparece un aumento proporcional en los tejidos y en la sangre, pero cerca de 10 veces mayor en la coclea. Un posterior aumento de la dosis 5 veces su valor inicial se acompaña del incremento correspondiente en suero y otros tejidos y, sorprendentemente, las concentraciones encontradas en los líquidos cocleares deja de aumentar a pesar del algo nivel hemático; gráficamente, los valores de concentración representan una curva de saturación en el oído interno y una relación lineal a nivel hemático. Además de esta alta concentración de la droga en los líquidos laberínticos existe un efecto acumulativo de la misma por una lenta eliminación. A este respecto, Stupp et al. (1967) han demostrado que a las 24 horas de una dosis de 250 mg. todavía quedaba en la perilinfa un 10% de Kanamicina del día anterior. Esto es importante ya que un aumento de la dosificación puede provocar un desproporcionado aumento de la concentración en la endolinfa. Por otro lado, después de 10 días de inyección de una dosis similar del antibiótico, la concentración a nivel de los líquidos laberínticos era un 59% superior a la que se encontraba tras la primera inyección, pero después de 20 inyecciones la concentración es solo del 37%. Existe un efecto acumulativo evidente pero este no es lineal con respecto a las sucesivas dosificaciones por cuanto que a mayores concentraciones la eliminación parece estar aumentada. Datos similares fueron hallados por Wersall y Lundquist en 1967. Por otra parte, Debain (1969)

comenta también que en el oído interno se concentra el antibiótico y se elimina lentamente. Para el caso de la Kanamicina, a las 10 horas después de la inyección la concentración en los líquidos laberínticos es 10 veces mayor que en la sangre, 20 veces mas que en el hígado y 100 veces superior a la del cerebro, razón por la que las alteraciones cocleo-vestibulares asientan en el oído interno mas que en las vías centrales. Con respecto a la eliminación de las sustancias, es extremadamente lenta:- el tiempo medio de renovación en la sangre es de 85 minutos , mientras que en el oído es de 10 horas. Por lo demás, no todos los antibióticos presentan la misma concentración del antibiótico en los fluidos del oído interno, ni permanecen el mismo tiempo estando en parte en relación con la toxicidad del antibiótico. Asi por ejemplo la Neomicina, uno de los antibióticos más tóxicos del grupo, permanece mas tiempo en los líquidos laberínticos (Ylikoski, 1974).

De todas formas estas experiencias no explican el mecanismo de acción a nivel citológico ni por qué se lesionan preferentemente las células sensoriales. Para esto último se barajan básicamente dos hipótesis, síntesis errónea de proteínas por fijación del antibiótico sobre alguna fracción ribosomal o interferencia a nivel del ciclo de Krebs.

Wersall et al. (1973) encuentran, como primeras alteraciones celulares, una disminución de densidad hialoplásmica, interpretada como una disminución de ribosomas a la vez que alteraciones nucleares consistentes en hinchazón del mismo. Este

hallazgo les hacen suponer que el antibiótico actúa sobre el R. N.A. Datos similares han sido publicados por Spoendlin (1966), Gee et al. (1969), Gonzalez et al. (1972) y Darrouzet y Guilhaume (1974).

Otros autores como Debain et al. (1969), Hawkins (1973), Ylikoski (1974) y Bagger-Sjoberg and Wersall (1978), señalan alteraciones precoces a nivel mitocondrial, sugiriendo principalmente una afectación precoz sobre el ciclo de Krebs; El Mofly y El Serafy (1966) estudian la actividad de la succinodeshidrogenasa después de su intoxicación, encontrando una disminución significativa de su actividad fundamentalmente a nivel de las células sensoriales, células de Deiters y ligamento espiral.

Para Hawkins (1973) la razón de que se lesione el órgano de Corti, estriba en una alteración de las condiciones microhomeostáticas que regulan el volumen, ritmo de formación y composición iónica de los fluidos del oído interno, independientemente de que el agente lesivo sea trauma acústico, tóxicos o envejecimiento.

Pero además de estos hechos, la lesión en el caracol membranoso presenta una distribución de las lesiones a lo largo del ductus coclear y como señala Anniko (1976) existen pocos datos en la literatura para explicar este hecho.

Beck y Krahl (1962) sugirieron que el más lento flujo sanguíneo en la región basal de la cóclea podría provocar una mayor concentración de la droga circulante a estos niveles,

aunque se lesione primero la primera hilera de c.c.e. que esta espira.

Anniko y Wersall (1975) describieron alteraciones precoces en la estria vascular en relación con el segmento de órgano de Corti lesionado, sugiriendo que cambios metabólicos regionales fueron los responsables del daño celular.

Kohonen (1965) encuentra que la correlación entre el grado de vulnerabilidad y el grado de inervación eferente diferencial de cada c.c.e. era tan estrecha que inducía a pensar que justamente aquellas células que son mas ricas en este tipo de terminaciones era más fácil que fueran interferidas en su metabolismo por la acción del tóxico.

Por otro lado, se sabe que la espira basal consume más O_2 que otras espiras (Rauch, 1965).

Sin embargo, las lesiones en un principio presentan un patrón irregular que según la mayoría de los autores posteriormente se centra sobre la espira basal, pero hay otros que encuentran lesiones primariamente en el vértice y solo en estadios avanzados de lesión, en la basal. Además de todas las células ciliadas externas de una misma espira, presentan el mismo grado de afectación y así la primera hilera de la basal parece ser la más vulnerable en algunas circunstancias mientras que en otras parece ser la tercera hilera de c.c.e. del vértice.

Con respecto a las c.c.i. el problema está aún mas oscuro, sin tener claro su patrón lesional, habiendose relacionado exclusivamente con la inervación de estas células.

44

ASPECTOS FARMACOLOGICOS

La Kanamicina y la Gentamicina pertenecen a la familia de antibióticos aminoglucósidos; fueron descubiertos por Umezawa (1958) y Weinstein (1960) respectivamente, y se obtienen por fermentación del *Streptomyces Kanamyceticus* y *Micropusa Purpurea*. Estructuralmente están constituidos por dos aminoazúcares enlazados entre si por una molécula de dexoxitreptamina, y mediante estudio cromatográfico se ha llegado a demostrar que tanto la Gentamicina como la Kanamicina no están constituidas por una sola especie química, sino que son el resultado de la mezcla de 3 componentes, denominados en el caso de la Gentamicina C₁, C₂ y C_{1a}, cuya fórmula empírica es C₁₇₋₁₈ H₃₄₋₃₆ N₄O₇ ; en el caso de la Kanamicina se designa A, B y C siendo su fórmula C₁₈ H₃₂₋₃₆ N₃₋₅ O₁₀₋₁₁. El estudio estructural del espectro de absorción de infrarojos de la Kanamicina y Genta-

micina demuestra (Figs. 1 y 2) que presentan varios picos a distintos niveles (3.400, 1.650, 1.550, 2.960, 1.485 y 1.408) que corresponden a las vibraciones de estiramiento de los enlaces NH pertenecientes a los grupos aminos primarios libres de la estreptamina CH pertenecientes a los grupos CH_3 y CH_2 y a los enlaces CO de los grupos fenólicos. Por utilizarse en forma de sulfato se aprecia una banda de absorción correspondiente al grupo funcional del anion sulfato que presenta un pico agudo en 620 cm^{-1} .

Por lo que respecta a las propiedades físicoquímicas de estos compuestos, son polvos blanco-cremosos, inodoros y de sabor amargo cuyos pesos moleculares son $435^{\pm} 21$ y $450^{\pm} 28$ para la Gentamicina y Kanamicina respectivamente. En solución acuosa presentan carácter ácido, son fácilmente solubles en H_2O , muy poco solubles en alcohol y prácticamente insolubles en eter y cloroformo. Estos antibióticos pueden considerarse estables a temperatura ambiente tanto en estado seco como en solución (Litter, 1973), siendo las soluciones acuosas estables al calor.

Con respecto a la absorción, destino y excreción, se absorben, al igual que la estreptomycin que pertenece al mismo grupo, muy poco en el tracto digestivo obteniéndose, por esta vía, niveles sanguíneos muy bajos e inconstantes a la vez que son altos en heces. Por el contrario, se absorben perfectamente por vía subcutánea e intramuscular, produciendo niveles sanguíneos efectivos que son máximos a los 50 minutos (Litter, (1973) y duran de 5 a 12 horas dependiendo del antibiótico

utilizado. Se distribuyen por todos los órganos y líquidos del organismo, pasando en escasa cantidad al líquido cefalo-raquídeo (a menos que exista meningitis) y se eliminan por orina, sin sufrir ningún cambio estructural en su molécula, lo cual hace que sean efectivos en infecciones urinarias.

La acción farmacológica de estos antibióticos es fundamentalmente antimicrobiana, siendo de espectro reducido y de acción predominantemente bactericida (Litter, 1973). El espectro antimicrobiano de la Gentamicina, abarca numerosos microorganismos patógenos Gram negativos (incluyendo a *Pseudomonas*) y Gram positivos (incluyendo a estafilococos resistentes a la Penicilina-G), teniendo especial interés la gran actividad de la Gentamicina sobre varias cepas de *Pseudomonas aeruginosa*. A este respecto, y comparándola con otros antibióticos aminoglucósidos (incluida la Kanamicina), Barber y Waterworth (1966) demostraron que la Gentamicina posee gran actividad frente a *pseudomonas*, superando la de la estreptomycin y la kanamicina, y además es también activa frente a estafilococos resistentes a la neomicina y kanamicina. Uno de los estudios más completos publicados sobre la sensibilidad bacteriana a la Gentamicina fue el de Klein y cols. (1964) en el que se determinó la concentración mínima inhibitoria (C.I.M.), para 885 cepas de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas aisladas en la clínica. Excepto la enterococos y el grupo B de los estreptococos, todos fueron inhibidos por pequeñas cantidades de Gentamicina (Jao et al. 1964).

Por otra parte son susceptibles a la Kanamicina el estafilococo y menos el neumococo y *Corynebacterium diphtheriae* entre los Gram-positivos y el gonococo, *aerobacter aerogenes*, *colibacilo*, *Klebsiella pneumoniae*, *proteus*, etc., entre los Gram negativos. Los estafilococos resistentes a otros antibióticos son susceptibles a la Kanamicina y en cambio, los estreptococos microorganismos anaerobios, los hongos, rickettsias y virus no son susceptibles.

Con respecto a las resistencias que se desarrollan frente a este antibiótico hemos de decir que se producen de forma lenta y gradual, habiéndose descrito resistencias cruzadas (Klein et al., 1964) entre los distintos antibióticos aminoglucósidos.

Gracias a los estudios del grupo de Umezawa se sabe que las propiedades antimicrobianas de estos fármacos y en especial la Kanamicina, están localizadas fundamentalmente a nivel de los anillos 1 y 2 (Fig. 3) donde reside a su vez la capacidad de resistir la acción enzimática de las bacterias. También señalan que la capacidad tóxica de estos antibióticos está ligada al anillo 3, conclusión a la que han llegado mediante fraccionamiento diferencial de las moléculas a distintos niveles. Por esto en el grupo III el aminoazúcar 3 ha sido sustituido por una ribosa, hecho que ha determinado que la potencia ototóxica de este nuevo grupo sea considerablemente menor, y a la vez conserva las mismas características farmacocinéticas antibacterianas.

Además de la acción antimicrobiana expuesta anteriormente, estos antibióticos (y en general los aminoglucósidos) ejercen una acción sobre el organismo que han de considerarse como acciones tóxicas. Aparte de las lesiones del oído interno existen otras a nivel renal que pueden generar insuficiencia renal y agravar el cuadro ototóxico.

M A T E R I A L Y M E T O D O S
=====

Para el presente trabajo se han utilizado 70 cobayas hembras albinas homocigóticas (275-325 gr.) que no mostraron patología sistémica (hemograma, cariotipo, función hepática y renal; estas determinaciones fueron realizadas por el Departamento de Experimentación Animal del Hospital Clínico de San Carlos, Prof. García Partida) ni audiológica. Este último extremo fue concretado por el Prof. Poch Broto, del Departamento de O.R.L. de esta Facultad, a partir de análisis electrococleográficos y del reflejo de Preyer. Los primeros se efectuaron utilizando clicks filtrados y electrodos implantados en el promontorio; el reflejo de Preyer se comprobó mediante estimulación subliminal con fluidos blancos en cámara anecoica, manteniendo el animal inmovil mediante un molde de metacrilato. Una vez demostrada la ausencia de trastornos espontáneos (por lo demas raros en la especie seleccionada), los animales se distribuyen en dos series de 30 individuos cada una; los 10 restantes permanecieron intactos a lo largo de la experiencia y se sacrificaron al final de la misma. En ningun caso se encontraron lesiones en este grupo control, lo que permite descartar la influencia de tóxicos ambientales no detectados.

Los animales de la serie I fueron tratados con dosis de 30 mg/Kg./dia de Kanamicina, administrada por via intraperitoneal durante 7 dias consecutivos, procediendose a sacrificarlos en grupos de 8 a los 7,15 y 30 dias (grupos A, B, C) de la primera inyección. Los 6 cobayas restantes (grupo D) recibieron solo el excipiente y fueron estudiados con la misma crono-

logía que los anteriores. Este grupo nunca reveló desviaciones de la normalidad.

La serie II se confeccionó según la misma pauta, administrándose una dosis total de 560 mg/Kg. de Gentamicina por vía peritoneal, fraccionada en 7 administraciones espaciadas 24 horas. Los animales, también en grupos de 8, se sacrificaron a los 7, 15 y 30 días (grupos E, F, G) y como en el caso anterior 6 animales (grupo H) se destinaron a valorar morfológicamente la toxicidad del excipiente, que resultó ser nula.

La comprobación de los distintos componentes de ambos antibióticos se realizó utilizando técnicas de cromatografía en capa fina y algunas en papel. En el caso de la cromatografía en capa fina, para la Gentamicina (Fig. 4 A), se han empleado placas de Silicagel previamente activadas y como solvente de arrastre se utilizó la capa inferior de una mezcla formada por cloroformo, metanol y amoníaco 20% en proporciones 1:1:1. La cámara de cromatografía se saturó durante una hora con la solución de arrastre y las muestras a cromatografiar se emplearon al 2 y al 4% de concentración en agua destilada y en aplicaciones de 2, 4 y 8 mcl. Los desarrollos óptimos se lograron con cinco-seis horas, secando con aire frío y fijando las manchas a 120° C durante una hora. Para la tinción se pulverizó la solución recientemente preparada de ninhidrina al 0'25% en alcohol absoluto. El revelado consistió en cinco minutos a 120°C. En cada placa se revelaba solamente una estrecha franja marginal para determinar la localización de cada componente cromato

gráfico y poder así recortarlo cuantitativamente para aislarlo. Una vez recortado y extraída la capa de gel se lavó con agua destilada hasta agotar el contenido del antibiótico. Reunidos los líquidos de extracción y lavado, se filtraron y liofilizaron. De este modo ninguna molécula orgánica extraña puede acompañar y contaminar los componentes aislados de cada antibiótico; únicamente, y como excepción, pueden realizarlo iones minerales no significativos.

El estudio cromatográfico de la Kanamicina (Fig. 4 B), se realizó utilizando placas de Silicagel y como solvente una solución de acetato amónico 3'85%. La temperatura empleada fue de 105°C y para el revelado la ninhidrina al 0'1% en n-butanol durante 5 minutos (British Pharmacopoeia, 1973, pág. 258).

También se ha utilizado la técnica de cromatografía descendente en papel para aislar los distintos componentes de ambos antibióticos y comprobar así la presencia de los mismos en el producto utilizado. El procedimiento utilizado ha sido el descrito en la Farmacopea Británica de 1973 (pág. 216), teniendo y revelando tiras de papel con la localización exacta de los componentes cromatográficos.

Por otro lado, además del estudio cromatográfico de ambos antibióticos (Kanamicina y Gentamicina) se realizó un estudio estructural por medio del espectro de absorción de infrarrojos de los productos utilizados en su forma sulfato. Este estudio se realizó en un Beckman Aculab 6 comprobando las distintas estructuras comentadas en el apartado referente a la in-

roducción (Figs. 1 y 2). Las determinaciones precedentes han sido efectuadas en el Instituto Llorente, S.A. por Dña. Ana Pérez Cao, asidua colaboradora en esta línea de trabajo.

Los animales se sacrificaron bajo anestesia con Nambutal, procediéndose de inmediato a la fijación de la coclea. Este proceso es bastante complejo, dada la escasa accesibilidad del órgano de Corti, lo que ha obligado, en una fase previa , a efectuar multitud de ensayos tanto en lo referente a la composición de los fijadores como a la técnica del procesado de las muestras, utilizándose al efecto aldehído, tetróxido de ósmio y acetato de uranilo. Los aldehídos empleados fueron glutaraldehído y paraformaldehído a las concentraciones de 2'5 y 1% respectivamente. El paraformaldehído se disolvió según la normativa de Pease (1964). El glutaraldehído empleado fue previamente sometido a purificación con carbón activo, de acuerdo con la técnica de Gillett y Gull (1972), ya que ninguna de las marcas comerciales suministra el producto con fecha de envasado. La determinación de la eficacia de la purificación se consiguió mediante el análisis del espectro de absorción (ultravioleta), considerándose terminado cuando desaparecía el máximo de absorción a 235 μ m. quedando solamente un pico de 280 nm. correspondiente al glutaraldehído (Fig. 5). Este reactivo de pureza comprobada fue titulado iodométricamente según el método de Frigerio y Shaw (1969), obteniéndose unas concentraciones de glutaraldehído puro entre 12 y 15%. En todos los casos, este reactivo se conservó en frascos de 25 c.c. herméticamente cerrados y

congelados a -70° C. Estas valoraciones se han realizado en la Cátedra de Fisiología (Prof. Tamarit) y en el laboratorio Central del Hospital Clínico (Dr. Valor Perea), así como en el laboratorio de aplicaciones de Perkin-Elmer Hispania.

Como vehículo disolvente de los aldehidos se utilizó buffer fosfatos (Sorensen) 0.125 M, pH 7, cuya osmolaridad fue ajustada mediante adición de cloruro sódico, a 440 OsM/l para las muestras destinadas a MET y a 320 mOsM/l para los de MEB; estas determinaciones se efectuaron según el descenso del punto crioscópico medido en un instrumento "Advancet Instruments". La elección de estos valores está basada en resultados previos sobre material hematológico y en las recomendaciones habituales, que establecen como óptimo una discreta hipertonia del buffer para la fijación en microscopía de transmisión (Schultz y Karlsson, 1965; Merchan et al., 1974) y una ligera hipotonia para la microscopía de barrido (Weakley e Ikbál, 1973). Además, al buffer se le añadió $1-3$ nM de calcio iónico, dada la conocida acción estabilizadora sobre los fosfolípidos (Leeson y Kalant, 1961). La adición de este último compuesto se efectuó goteando lentamente, con agitación continua y manteniendo el buffer a $0-4^{\circ}$ C para evitar precipitados.

En cuanto a la mezcla fijadora, en ocasiones se emplearon aldehidos aislados y en ocasiones conjuntamente (Karnovsky 1965), aunque no existieron diferencias entre unos y otros, siendo finalmente elegido el glutaraldehido.

Las técnicas ensayadas para fijar con la mezcla anteriormente comentada han sido básicamente cuatro, a saber, inmersión, perfusión sistémica, perfusión endolinfática y perfusión mixta (sistémica y endolinfática). La primera de ellas consiste en decapitar al animal exponiendo rápidamente el caracol tras extraer los temporales y abrir la bulla. A continuación separar el caracol óseo del hueso y se sumerge en el fijador a 4° C, tras practicar con una aguja otológica (y bajo control estereoscópico), una serie de orificios en la pared externa de la coclea para facilitar la penetración. Este proceso da buenos resultados siempre y cuando el tiempo transcurrido entre la decapitación y la inmersión en el fijador de la pieza (con la lámina de los contornos parcialmente abierta), no sea superior a dos minutos. Hemos de comentar también que, aunque la metodología es básicamente igual para MET y MEB, en el caso de la microscopía de barrido se obtienen mejores resultados (con esta y con las restantes técnicas) si durante los primeros diez minutos de la fijación, el fijador se encuentra a temperatura ambiente (22-25°C) debido a que una breve y enérgica acción de glutaraldehído templado mejora notablemente la preservación de los finos detalles celulares.

El otro método realizado consiste en la perfusión sistémica por vía cardíaca, empleando bien un simple dispositivo compuesto por un embudo de decantación unido a una cánula (cater de safena) por medio de un tubo de polietileno en el que se intercala una ampolla cuentagotas, o bien un aparato más sofis-

ticado, con presión y flujo regulables de forma continua y constante (Merchan et al., 1974). En ambas situaciones el procedimiento quirúrgico para colocar la cánula es el mismo:- se realiza una incisión en la línea media del cuello para exponer la traquea e intubar al animal, al que se mantiene conectado durante todo el proceso a una bala de carbónico con un respirator Manley intercalado y a un ritmo de 1-2 litros por minuto. Posteriormente se expone el peto costal, se seccionan las costillas, y, tras poner un hemostato sobre las mamarias, se evierte el peto, con lo que se expone el corazón. A continuación, y tras inyectar 1 c.c. de nitrito de sodio al 0'1% y 250 u. de heparina en el ventrículo izquierdo, se abre el mismo y se sujeta la cánula en la raíz aórtica mediante una ligadura, comenzando en este momento la perfusión a una presión inicial de 80-100 mmHg y un flujo de 60 c.c. por minuto; al mismo tiempo se abre el corazón derecho para evitar hipertensiones y se deja circular aproximadamente 400 c.c. de fijador. Por último, se extrae el caracol óseo del mismo modo que hemos comentado para el caso anterior.

Esta técnica, que es la mas larga de ejecutar (2-3 h.) de las empleadas por nosotros, no es, por el contrario, la que mejor resultado ofrece, de tal modo que es frecuente encontrar artefactos de autolisis. Este hecho puede ser debido a la dilución del fijador en el líquidos cocleares o, lo que es mas probable, a la peculiar microvascularización del oído, cuyos capilares generalmente aparecen con esta técnica con hematies en

su interior, signo de que el fijador llega mal a estas estructuras.

La tercera prueba utilizada por nosotros, en un intento de conseguir la mejor técnica de fijación posible, ha sido la de la perfusión perilinfática, que ha resultado, a la vista de nuestros hallazgos ser el mejor método para el órgano de Corti. En esta técnica, y con el animal anestesiado, se practican dos incisiones en el cuello, a ambos lados de la línea media y por debajo de la mandíbula (que en muchas ocasiones es preciso desarticular) y se llega a la bulla y al caracol, no interfiriéndose en absoluto el riego sanguíneo del oído. Posteriormente, por medio de una aguja otológica, se realizan dos orificios en la coclea, uno en la base y otro en el apex, introduciendo por el primero la punta de una pipeta Pasteur, previamente adelgazada a la llama y conectada a una bureta con fijador elevada a 50 cm. del plano de la mesa. Con este dispositivo se hace circular por la coclea 40-50 c.c. de fijador frío (4° C) durante media hora, extrayendo posteriormente la coclea como en los métodos anteriores y realizando amplios orificios en el caracol óseo, que se sumergen en la mezcla fijadora durante 60 minutos mas, a 4°C.

La última prueba, o perfusión mixta, es una mezcla de las dos anteriores, realizando casi simultáneamente la perfusión perilinfática y la perfusión sistémica. Con este método se obtienen resultados similares al anterior, por lo que se ha elegido el precedente por ser este último mas engorroso.

Una vez fijadas las cocleas por uno de los métodos anteriormente comentados, se lavan brevemente (10-15 minutos) en el mismo buffer que sirve para diluir el glutaraldehído y se osmifican en tetróxido de ósmio al 2% recientemente disuelto en buffer Michaelis pH 7 440 mOsM/l. Una vez finalizada la ósmificación (90 minutos a 4°C), la técnica varía ligeramente según se trate de material para MET ó MEB, por lo cual la trataremos por separado.

1) Microscopía Electrónica de Transmisión

Para esta técnica, las piezas ya osmificadas se sumergen en buffer para lavarlas (10-15') y, bajo control estereoscópico, se comienza la extracción del caracol membranoso para su posterior inclusión para MET. En primer lugar, y con una fresa de diamante y agujas otológicas, se separan los fragmentos de la lámina de los contornos, quedando al descubierto el caracol membranoso unido exclusivamente a la lámina espiral. En este momento, y mediante unas tijeras de iridectomía, se separan las membranas del componente óseo que las une al modíolo. De esta forma se obtienen unos fragmentos de aproximadamente 3-4 mm. de longitud y 0'5 - 1 mm. de espesor, recogiénolas en tampón de acetato de veronal clorhídrico pH 5 donde se mantienen 15 minutos a 4° C. Una vez enfriadas y acidificadas, se sumergen en acetato de uranio 0'5% en buffer de Michaelis (pH 5) donde se mantienen a 0°C por espacio de 60 minutos y en oscuridad. El acetato de uranio se prepara inmediatamente antes de su uso, y los posibles precipi-

tados se descartan mediante centrifugación. Posteriormente se vuelven a lavar en el mismo buffer y se procede a prepararlos para la inclusión.

Previamente a la misma es necesario, sin embargo, infiltrar los tejidos con agar, ya que, como es sabido, siempre existe en los márgenes de las piezas incluidas en resinas epoxia una pequeña banda de tejido donde los fenómenos de compresión por la cuchilla del ultramicrotomo son apreciables y que generalmente tiene poca importancia si el tallado es correcto, es decir si se elimina todo el medio de inclusión que rodea la pieza. Sin embargo, en el órgano de Corti los espacios de Nuel son, volumétricamente hablando, similares al espacio celular, por lo que los problemas de compresión se producen a todos los niveles del tejido. Por otra parte, tampoco puede eliminarse por completo el plástico circundante, ya que entonces no podríamos estudiar las zonas periféricas como limbo espiral o el surco externo. La técnica de infiltración se realiza preparando una mezcla de Bactogar al 0'5% y de Tryptoser Blood Agar al 3'3%, que se calienta hasta su punto de ebullición, dejándola posteriormente enfriar a 40°C, temperatura a la cual se utiliza para introducir las membranas en su interior. Posteriormente se deja que alcance la solidificación, tallando a continuación pequeños cubos de 3-5 mm de lado que contienen el tejido y que son los que se someten a la deshidratación.

La deshidratación se realiza por medio de acetonas de concentración ascendente, permaneciendo 10-15 minutos en cada

una de ellas, hasta llegar a la acetona de 70° en la que se man tiene toda la noche, para conseguir una consistencia del agar ideal para la microtomía. Posteriormente se mantienen 30 minutos en acetona de 90 y 60 en acetona pura, pasando al óxido de propileno (30 minutos) y al medio de inclusión. De todos los medios de inclusión ensayados (Epon, Araldita, Spuer y Vestopal), los mejores resultados para este material los proporciona la Araldita (FLUKA), técnica por otra parte rutinaria en nuestro la boratorio. Los bloques se preparan en moldes planos, orientando las membranas en el sentido en que deseemos examinarlas.

De todos los bloques se realizaron cortes de 1-2 micras mediante un Piramitotomo LKB, tiñéndolos posteriormente con azul de Toluidina. Mediante estos cortes panorámicos, y utilizando oculares con cuadrícula, se pudieron seleccionar áreas conocidas por ultramicrotomía, tallándose en el bloque distintas masas al efecto. Los cortes ultrafinos se realizaron mediante un ultrami crotomo LKB-III, recogiénose en rejillas filmadas con Formwar y reforzadas con carbón. Una vez obtenidas las rejillas se contrastaron con acetato de uranio (Watson) y citrato de plomo (Reynolds) y se estudiaron en microscopios electrónicos Hitachi HU-12 A y Zeiss EM-10 , trabajando a 60-125 Kv de potencial de aceleración.

2) Microscopía Electrónica de Barrido

La técnica de procesado de las muestras para MEB difiere de la hasta ahora expuesta, debido a que, como es bien conocido, el campo de análisis es la superficie (y no el interior)

de la muestra; esto permite prescindir de la inclusión y corte de las mismas, pero requiere de otros procesos como son la desecación y el recubrimiento. En realidad, estos pasos, incluyendo la fijación, están en íntima relación con las características del aparato, que por ser un instrumento introducido en la investigación analítica hace relativamente poco tiempo, no es bien conocido, aunque es necesario su conocimiento previo para poder comprender la razón de muchas de las variantes introducidas en esta técnica de MEB (ver Merchan, 1979). Nosotros no comentaremos las características del aparato, pero las técnicas empleadas por nosotros en la preparación de muestras para el mismo, en especial los aspectos mas esenciales de la fijación, deshidratación, desecación y recubrimiento.

En cuanto al primer paso, y aunque pudiera parecer lo contrario, las piezas hay que fijarlas en su totalidad y no sólo en superficie ya que sino al observar las muestras los haces de electrones rompen la pieza impidiendo el enfoque de algunas áreas. Con respecto a la molaridad de los fijadores, parece ser, y así lo hemos considerado nosotros, que la utilización de fijadores normo o ligeramente hipotónicos en la técnica de microscopía de barrido, es notablemente mejor de acuerdo con los estudios de Swearkey e Iqbal (1973). Otro parámetro a valorar es la temperatura, y a este respecto hemos seguido las indicaciones de Lim (1973), que aconseja el fijador a 37°C para la fijación de las finas prolongaciones. Hemos variado unicamente algo la temperatura (15°) y durante menos tiempo (30 minutos), pro-

siguiendo posteriormente la fijación en frío hasta completar los 90 minutos. En este sentido, también Barber y Burkholder (1975) aconsejan temperaturas entre los 25 y 30° C, confirmando las observaciones de Lim en cuanto a la mejor preservación de las prominencias delgadas y los finos relieves celulares. Sin embargo, nosotros hemos obtenido mejores resultados utilizando en un segundo estadio fijadores fríos, si bien la aplicación de fijadores a 25°C en los primeros 30 minutos mejora la calidad de imagen. En lo que respecta a la composición de los fijadores empleados así como a la técnica de fijación y de osmificación ha sido la misma que en los casos de procesamiento de muestras para microscopía de transmisión.

La disección estereoscópica debe realizarse impidiendo la desecación prematura de las muestras. Para evitar este hecho, se ha aplicado una fuente de luz fría y un goteo constante de buffer Michaelis. El instrumental necesario es el mismo que el descrito para la obtención de membranas, incluyendo la utilización de agujas otológicas, microfresa de Portman y pinza de relojero. Los temporales se fijaron a la platina del estereomicroscopio mediante un soporte especial construido para este proceso, e inmediatamente se procedió al fresado y extracción del caracol óseo y a dejar al descubierto el caracol membranoso; esta técnica requiere un mayor fresado en la parte postero inferior de la cóclea para poder obtener sin problemas todo el caracol membranoso, desde la basal al apex, en una sola pieza y estudiarla entera.

Un hecho importante para poder estudiar el órgano de Corti es que si no se extirpa con unas pinzas de relojero y tijeras de iris la pared más externa de la rampa media (prominencia y estria vascular), no se pueden observar las estructuras del órgano de Corti por interponerse en la trayectoria del haz de electrones. Como consecuencia de la extirpación de la estria vascular, la membrana de Reissner cae directamente sobre la superficie del órgano de Corti impidiendo su visualización y es necesario evertirla hacia la parte mas medial, para así obtener todas las estructuras del órgano de Corti, incluyendo el limbo espiral y la región del surco interno. Por otra parte, la membrana, al perder su inserción distal se hace más sensible a las distensiones mecánicas, con lo que se requiere un tratamiento más cuidadoso en el procesado ulterior, evitando los roces sobre las paredes del recipiente.

Un caso especial es la espira basal, en parte por el grosor y tamaño de sus estructuras y en parte por la existencia de un plano de despegamiento en la región interna que hace que con la pared lateral y estria vascular se vaya parte del órgano de Corti, en especial las células de Hensen y la tercera hilera de c.c.e. Por este motivo es necesario dejar parte del surco externo cortando con las tijeras de iridectomía exclusivamente la estria vascular.

Una vez realizada la disección se procede a la deshidratación en acetonas ascendentes, previo lavado de 30-40 minutos (10 pases) en buffer Michaelis. El proceso de deshidratación

resulta ser muy crítico, de tal forma que tiempos muy prolongados o excesivamente cortos provocan la aparición de imágenes artefactuales. De este modo, se aplicaron tiempos de deshidratación de 8 minutos, realizándose dos pases en cada acetona, con excepción de las acetonas de 90 y 100, que fueron de 10 minutos.

Una vez deshidratadas se procedió a la desecación de las piezas proceso sumamente delicado en la metodología general de los microscopios de barrido, ya que en el curso de la misma pueden aparecer retracciones y resquebrajamientos, impidiendo la visibilidad del material. Estos hechos generalmente ocurren cuando se emplea el secado natural (secado al aire), reduciéndose de forma considerable cuando se emplea la desecación al punto crítico, técnica enunciada por Anderson (1951) que es prácticamente imprescindible en casi la totalidad de los campos de investigación biológica.

El fundamento de la misma consiste en reemplazar, en el seno del tejido, el agente deshidratante por un líquido mas volátil (acetato de amilo), que a su vez se sustituye por anhídrido carbónico (o nitrógeno) líquido. En esta situación la pieza se somete a unas condiciones de presión y temperatura en las que el cambio de estado ocurre sin variación de volumen (punto crítico), produciéndose la evaporación del carbónico y la desecación del tejido sin que se produzca distorsión ninguna. Este proceso requiere, por tanto, una cámara con presión y temperatura regulables, en nuestro caso un aparato Hitachi HCP-1. En la cámara del mismo, previamente enfriada a -15°C , se introducen

las piezas, que antes se han mantenido en acetonas añadidas de acetato de amilo en concentraciones progresivamente crecientes (25%, 50%, 75%, 100%). Una vez realizados estos pases (5-10' cada uno), se dejan secar al aire durante un tiempo no superior a un minuto y posteriormente se cierra la cámara, llenándola y vaciándola cinco veces, manteniendo la temperatura al mínimo durante diez minutos. Finalmente se llena una última vez de carbónico líquido, aplicando una temperatura inicial de 42°C que sube a 47 cuando la presión alcanza los 100 Kgs./cm². Una vez que ha llegado a las condiciones del punto crítico, se mantiene durante 10 minutos, vaciando el gas lentamente y extrayendo las muestras cuando se alcance la temperatura ambiente. Las muestras preparadas por este proceso presentaron la rigidez esperada de las estructuras superficiales, contrastando con las desecadas al aire o con otros tiempos de procesado.

Una vez secas se preparan las muestras para fijarlas a los portas del microscopio de barrido mediante una pasta semiconductor de plata, y sometiéndolas luego (una vez seca la pasta) a vapores de ácido ósmico durante dos horas. Una vez realizado esto, se recubren de inmediato o bien se almacenan en una cámara de alto vacío.

El recubrimiento de la muestra se ha realizado en nuestro caso con oro o con oro-paladio; el grosor de esta capa ha de ser suficiente para proporcionar abundantes electrones secundarios pero no tantos como para que se produzca una sobrecarga de los mismos, ya que en este caso la imagen obtenida no

es real ya que la capa de metal se comporta en este caso de forma autóctona. Este problema de distorsión de imagen por sobrecarga es uno de los mas complejos dentro de la microscopía de barrido, no siendo infrecuente, en el caso de superficies tan anfractuosas como el caracol membranoso (que se procesa entero), que al lado de áreas con película de oro adecuada se encuentren otras con excesiva capa (sobrecarga) o muy escasa con falta de brillo.

Nuestras primeras experiencias, realizadas en un evaporador Hitachi HUS-4GB nos proporcionaron muestras con el problema anteriormente comentado de áreas de sobrecarga y áreas de falta de recubrimiento de oro, lo que se intentó soslayar recubriendo primero las muestras con carbón para intentar que el exceso de electrones fuese vehiculado por tierra. Este procedimiento, a veces eficaz, no se ha utilizado rutinariamente ya que muchas cocleas tenían que ser disecadas, hecho que conlleva a la repetición de algunas series. Es sin embargo preferible utilizar el "ionic sputtering" que proporciona un recubrimiento mas homogéneo que el evaporador. En nuestro caso se utilizó un Emscope Sputter EM-Coater, que recubre la muestra con partículas homogéneas y muy pequeñas que se liberan de un pan de oro bombardeando cationes en atmósfera de argón. Los resultados obtenidos con este sistema han sido mucho mejores que los obtenidos con el evaporador.

De cualquier forma, un hecho importante en ambos casos para evitar la sobrecarga es tallar una base de implantación en

el porta lo mas ancha y lisa posible, para que de esta manera se asegure una buena vehiculización a tierra de los electrones incidentes. Esta maniobra la realizamos una vez desecando el material y antes de pegarlo al porta-muestras. De todas formas, incluso empleando todos estos artificios, no se puede garantizar la total ausencia de efecto de sobrecarga en algunas muestras, recurriendo entonces a la aplicación de grafito coloidal sobre los puntos de contacto con el portamuestras.

El aparato utilizado para examen de las muestras ha sido un microscopio Hitachi HHS-2R trabajando a 10-12 Kv. de aceleración. Las mejores imágenes se han conseguido con voltajes bajos , que además de no dañar la muestra, y debido a su escasa penetración, dan una imagen libre del ruido derivado de la emisión de zonas profundas.

La sistemática de estudio de las muestras en este aparato fue en sentido ascendente de las espiras, mediante el giro del portamuestras y con una inclinación entre 35-45° de todas las espiras en el momento de estudiarlas con detalle, volviéndose siempre a la posición inicial en cuanto a la inclinación para realizar el giro y ascendente en la coclea.

Todos los datos recogidos anteriormente son resultado de múltiples pruebas para la obtención de imágenes lo mas reales posible, aqui se ha invertido gran parte del tiempo utilizado para poder realizar la presente investigación. Los delicado y complejo del problema nos ha llevado a hacer una descripción detallada de las mismas para poder comprender muchos de los aspectos y resultados obtenidos por nosotros.

12

RESULTADOS

La metódica elegida para exponer los resultados ha sido la exposición detallada de los hallazgos de cada serie (Kanamicina y Gentamicina) y dentro de cada una de ellas, comentaremos las alteraciones encontradas a los 7, 15 y 30 días de la administración del antibiótico. Asu vez, y dado el distinto comportamiento regional del caracol ante la agresión, se ha optado por seguir una sistemática descriptiva estrictamente topográfica (i.e., de dentro a fuera y de base a vértice), buscando con ello evitar la aparición anticipada de conclusiones. Evidentemente este proceder quizá sea excesivamente laborioso, y por ello se ha tendido a simplificarlo en la medida de lo posible, evitando la reiteración iconográfica y expositiva y recurriendo para ello a la referencia de otros grupos cuando el hallazgo en cuestión es realmente superponible.

7A

S E R I E - I

15

GRUPO A (KANAMICINA, 7 DIAS)

LIMBO ESPIRAL

Las células interdentes guardan su disposición típica, estando situadas fundamentalmente en la cara superior del limbo espiral y formando complejos (complejos interdentes) que, a su vez, se encuentran separados del corion interno por una membrana basal continua (Fot. 1). La forma y disposición del núcleo es la habitual, así como la distribución de la cromatina en grumos irregulares alrededor de la membrana nuclear. Por el contrario, el citoplasma de estas células presenta un aumento de organelas, fundamentalmente a expensas del R.E.L. y aparato de Golgi (Fots. 1, 2 y 3). Este R.E.L. se encuentra uniformemente distribuido por todo el citoplasma celular apareciendo incluso en las prolon

gaciones que emiten estas células hacia la parte superior del limbo, prolongaciones que vadean los dientes de Huschke y que se encuentran en íntimo contacto con la cara anhistá de la membrana tectoria; las cisternas suelen presentarse aisladas o formando pequeños grupos, y la mayoría son pequeñas, aunque existen algunas alargadas, de trayecto mas o menos tortuoso, y otras aparecen como vesículas dilatadas, aunque en escasa cantidad (Fots. 1 y 3). El aparato de Golgi puede aparecer en contacto con los canales de los complejos (Fot. 3), y las mitocondrias son redondeadas o ligeramente alargadas con crestas evidentes. Es frecuente encontrar gotas lipídicas (Fot. 2) en el citoplasma de estas células, que se sitúan en las cercanías del núcleo. Los canales intercelulares, algo dilatados, pueden presentar, a nivel parabasal, un material anhisto de densidad electrónica media (Fot. 3).

Las células interdentales que se encuentran en la parte mas externa del limbo espiral, a nivel del labio vestibular y directamente en contacto con las células del surco externo (células mitradas) presentan las mismas características que las células interdentales de la parte superior del limbo, mostrando gran cantidad de R.E. (Fot. 4) distribuido ampliamente por todo el citoplasma; son vesículas por regla general pequeñas, algunas de las cuales se encuentran dilatadas (Fot. 4). El aumento de aparato de Golgi es mas evidente, y generalmente se encuentra en las cercanías de la membrana celular. Los canales de las células mitradas, de calibre habitual, no presentan material de ningun tipo.

Las células del surco espiral interno (que tapizan la parte mas externa del limbo espiral, desde el labio vestibular hasta la membrana basilar) aparecen irregulares (Fots. 5 y 6), con mayor volumen y emiten expansiones de su citoplasma hacia la luz del surco espiral interno, reduciendo de esta forma el espacio existente entre las células del surco interno y la membrana tectoria. Estas células presentan un núcleo redondeado u oval (Fot. 6) de características habituales; el citoplasma se encuentra ocupado por gran cantidad de R.E., fundamentalmente del R.E.L. (Fots. 5 y 6), que se distribuye por todo el citoplasma celular. Este R.E. se expresa como vesículas redondeadas u ovales de distinto tamaño, pudiendo aparecer aisladas o formando pequeños grupos de varias unidades; gran parte de estas vesículas se encuentran dilatadas y suelen presentar un contorno más o menos irregular. De forma aislada es frecuente encontrar algun lisosoma; las mitocondrias, redondeadas o alargadas, y de contorno mas o menos irregular, se distribuyen por regla general en los límites celulares (Fot. 5) aunque puede verse, de forma aislada, alguna en la parte central del citoplasma de la célula (Fot. 5). En estas ocasiones, por regla general, son mitocondrias redondeadas que se sitúan en las cercanías de vesículas de R.E.L. dilatadas. Con bastante regularidad existen en el citoplasma de las células que nos ocupan. formaciones redondeadas, no limitadas por membrana e integradas por un material flocular de densidad electrónica media (Fot. 6). Tambien es posible encontrar células del surco espiral interno de matriz ci-

toplásmica densa (Fot. 5) y con menor cantidad de vesículas de R.E.L. dilatadas.

Todas las características referidas anteriormente, tanto de las células interdentes como de las células del surco espiral interno, las encontramos a todos los niveles de la coquea desde la espira basal al vértice.

REGION INTERNA

1- Células marginales y células de Deiters

En este grupo las células marginales y células de Deiters muestran características citológicas similares. Se encuentran algo aumentadas de volumen (Fot. 7), y su matriz hialoplásmica es de densidad mayor de lo habitual, presentando aumento del sistema vacuolar y de organelas en general; el R.E., en forma de vesículas o cisternas, se distribuye amplia y uniformemente por todo el citoplasma de estas células y gran parte de estas vesículas se encuentran dilatadas (Fot. 7), presentando, por regla general, un contorno irregular; las mitocondrias presentan una disposición, forma y tamaño que no difiere de las observadas en animales controles. En la parte superior de las células marginales, cuyo citoplasma emite una prolongación que se adapta perfectamente a las estructuras subyacentes, es frecuente observar lisosomas (Fot. 7) redondeados u ovales, en los que el contenido varía de unos puntos a otros con respecto a la densidad electrónica de estos elementos.

Las alteraciones descritas para este tipo celular las

hemos observado en todos los animales a nivel de 2E-3E-V (*).

2- Células ciliadas internas.

Las alteraciones a nivel de las c.c.i. las hemos encontrado fundamentalmente a nivel apical, tanto con MEB como con MET, cuyas imágenes son superponibles. Los estereocilios de estas células presentan una distribución y grosor normal (Fots. 8 y 9), aunque la longitud de algunos (Fot. 9) es notablemente menor de lo habitual. La rigidez típica de estos elementos, bien manifiesta en los animales controles donde los cilios aparecen completamente rígidos y formando una hilera continua, se pierde aquí, existiendo grupos de cilios caídos sobre la superficie cuticular de las c.c.i. Esta zona, por lo demás, es la de mayor alteración de estos elementos, presentando una gran disminución de la densidad electrónica (Fot. 8) además de superficie irregular (Fots. 8 y 9), libre de microvellosidades pero ligeramente abombada (Fot. 8), en especial por su cara más externa. La zona subcuticular muestra las organelas típicas de estas células, con mitocondrias, R.E., aparato de Golgi, microtúbulos y microfilamentos de distribución y cantidad habituales.

Estas alteraciones del polo superior de las c.c.i. fundamentalmente a nivel cuticular y ciliar solamente las hemos encontrado en el vértice de 3 animales, apareciendo completamente normales las espiras basal, 2E y 3E.

(*) La distribución espiral la denominaremos con las abreviaturas 1E (primera espira) 2E (segunda espira) 3E (tercera espira) y V (vértice).

PILARES

La región de los pilares muestra la misma lesión en ambos y a todos los niveles. La porción basal, que normalmente presenta una formación cónica de aspecto anhisto (cuerpo vítreo de Held) rodeada de abundantes estructuras microtubulares, se encuentra ocupada por gran número de vesículas (Fot. 10) de forma esférica y contorno algo irregular, que suelen mostrar en su interior otra formación esferoidea de menor tamaño. Esta alteración del sistema vacuolar en la porción basal se encuentra tanto entre el material anhisto como entre los microtúbulos, llegando incluso a estar en contacto o muy próximo a la membrana basilar.

A nivel de la parte media o tallo de ambos pilares, la presencia de espacios ópticamente vacíos rodeados de membrana se hace evidente (Fot. 11). Estas vesículas se encuentran distribuidas uniformemente por todo el citoplasma, incluyendo los haces de microtúbulos y llegando a presentar grandes tamaños (Fot. 11). Este hecho, descrito anteriormente en la zona basal y tallo, se extiende hasta la zona capital de los mismos y se ha observado fundamentalmente a nivel de las espiras apicales.

REGION DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS

1- Células ciliadas externas.

Las tres hileras de c.c.e., que se encuentran normalmente separadas por las respectivas prolongaciones falángicas de las células de Deiters externas, presentan en ocasiones un con-

torno irregular (Fot. 12), con áreas de citoplasma sumamente estrechado, y constituido casi en su totalidad por membranas fenestradas y mitocondrias (Fot. 12). En otras ocasiones la forma es mas regular (Fot. 16) pero su citoplasma se encuentra ocupado por unas estructuras que posteriormente veremos. La parte apical de dichas células, constituida por la zona cuticular y los elementos ciliares, presenta notables alteraciones.

Las W ciliares típicas de estas c.c.e. pierden su estructura (Fots. 18, 19 y 20), apareciendo (en especial en las hileras 2 y 3 de c.c.e.), agrupaciones de cilios de forma irregular en hileras o en ángulo interrumpidos por espacios vacios, que en algunas ocasiones, remedan a una W. Los cilios externos aparecen disminuidos en número (Fots. 19 y 20) y la mayoría se encuentran caidos sobre la superficie cuticular de las c.c.e. o sobre la superficie de las prolongaciones falángicas que conforman la membrana reticular. Las perdidas afectan tanto a las filas de cilios mas externas como a las mas internas, aunque son mas evidentes en las primeras (Fot. 19), constituidas por los cilios mas largos. Estas perdidas ciliares, asi como la perdida de rigidez ciliar, aparece fundamentalmente a partir de la segunda hilera de c.c.e. de la 2E (Fot. 18), siendo mas manifiesta en la tercera hilera dentro de una misma espira (Fot. 19) y en V. Por el contrario, la primera hilera de c.c.e. se conserva practicamente indemne a nivel de 2E - 3E (Fot. 18), encontrándose ocasionalmente alguna desestructuración ciliar. En V, en cambio, esto último es mas manifiesto, aunque nunca de la intensidad y cantidad que la hilera segunda y tercera.

Pese a las alteraciones ciliares, la superficie cuticular conserva su forma, tamaño y disposición habitual, presentando en algunas ocasiones gran cantidad de microvellosidades (Fots. 18 y 19) en zonas que normalmente están desprovistas de las mismas, o que, como mucho, presentan algun microvilli aislado. La cutícula aparece adelgazada (Fots. 12, 14 y 15), fundamentalmente en su parte más interna y conservando, por regla general, las expansiones que emite a modo de refuerzo en las uniones con las prolongaciones falángicas (Fots. 12, 13, 14 y 15). En el espesor de las cutículas es frecuente observar áreas de densidad electrónica menor (Fot. 12), y, en ocasiones, es la cutícula, en conjunto, la que muestra una pérdida homogénea de densidad (Fot. 14). En íntima relación con estas zonas, se observan lisosomas (Fot. 15) y gran cantidad de R.E. y mitocondrias (Fot. 14), que en algunas ocasiones se disponen de forma concéntrica (Fot. 14), recordando a los cuerpos de Hensen. Los lisosomas siempre los hemos encontrado inmediatamente por debajo de la zona cuticular, en especial cuando esta aparecía más adelgazada (Fot. 15); concomitantemente con estos hechos aparecen áreas en el citoplasma, generalmente en relación con los lisosomas (Fot. 15), de densidad electrónica similar a la que presenta la cutícula (Fots. 12, 15 y 16). Estas formaciones densas adoptan morfología irregular, distribuyéndose al azar; es notable, no obstante, que solo aparecen en aquellos casos en los que la cutícula presenta una disminución de su grosor o de su densidad electrónica, sugiriendo que parte del material cuticu-

lar se dispersa en el citoplasma.

En el cuerpo celular los cambios mas llamativos atañen igualmente al conjunto del sistema vacuolar, y, en especial, al R.E.; este organoide se encuentra muy aumentado, pudiendo disponerse bien en el interior de la célula o bien en situación hipolemmal, donde conforma membranas fenestradas que pueden llegar a presentar hasta 20-30 estratos (Fot. 16). Este refuerzo de las membranas fenestradas es, sin embargo, segmentario. El R.E. tambien puede mostrar tendencia a organizarse en cuerpos de Hensen, e incluso en dispositivos mas complejos, en los que existe (Fot. 17) una especie de segregación de áreas citoplásmicas por parte de cisternas de R.E. dispuestas concéntricamente. Este fenómeno por lo demás, existe también en el polo apical (Fot. 14).

Algunas c.c.e. muestran, además de los cambios mencionados, una alteración franca de la densidad hialoplásmica (Fot.13), que se acompaña de gran dilatación de todo el sistema vacuolar y, en especial del aparato de Golgi y R.E., sea cual sea la localización del mismo. Las mitocondrias, sin embargo, continúan siendo oscuras y pequeñas.

Tanto la presencia de lisosomas como el aumento del R.E. y alteración del sistema vacuolar, lo hemos encontrado fundamentalmente a nivel de la espira apical y ocasionalmente en 2E, 3E.

2- Células de Deiters externas

Estas células suelen mostrar un aspecto no excesivamente patológico, aunque de vez en vez aparecen, entre cuerpos celu-

lares de morfología normal, fragmentos celulares de densidad electrónica muy elevada (Fot. 21); dado que estos fragmentos se detectan tanto en la zona mas basal como entre los cuerpos propiamente dichos, es posible que se trate no de alteraciones segmentarias, sino de células de Deiters mas oscuras, de las que, y por efecto de corte, solo observamos algunos fragmentos.

Las restantes células de Deiters externas no presentan en el cuerpo celular sino algunas vesículas de R.E., fundamentalmente concentradas en el nacimiento de la prolongación falángica (Fot. 21). Estas alteraciones las hemos observado a partir de 2E, en dirección apical y nunca de manera continua, existiendo áreas completamente normales al lado de zonas de imágenes superponibles a la descrita anteriormente.

Con respecto a las prolongaciones falángicas, estas células presentan gran acumulación de vesículas de R.E.L. (Fots. 12, 15, 17 y 22), de distribución uniforme a lo largo de toda la prolongación; por regla general son de forma esférica, encontrándose algunas dilatadas y sin contenido aparente en su interior. Estos hallazgos los hemos encontrado sistemáticamente en todos los animales de este grupo en 2E, 3E y V, siendo la dilatación de cisternas de R.E. más manifiesta a nivel de la espira apical (Fot. 22). Las fibras nerviosas de esta zona son de apariencia completamente normal.

REGION EXTERNA

Las células de Hensen, Claudius, surco externo y estria vascular, presentan una morfología normal por lo que no las comentaremos. Sin embargo, las células del corion externo, que se distribuyen desde el ligamento espiral hasta la lámina de los contornos, recubriendo las células del surco externo y estria vascular, presentan sistemáticamente aumento de R.E. y dilatación del mismo (Fot. 23). En el citoplasma de estas células es frecuente encontrar unas formaciones (Fot. 23) redondeadas, de límites netos, que están integradas por un material anhisto y de osmiofilia media que aparece surcado por pseudomembranas anárquicamente dispuestas, aunque tienden a estratificarse en las áreas periféricas del enclave que nos ocupa. Las mitocondrias de forma redondeada o alargada, presenta, en ocasiones rarefacciones parcelares de la matriz (Fot. 23), con pérdida focal de crestas y presencia de un material poco denso de aspecto irregular en su seno.

La sustancia fibrilar que normalmente se encuentra entre las células del corion externo no presenta cambios morfológicos evidentes.

OTRAS ESTRUCTURAS

La membrana tectoria presenta en su porción fija, grandes acúmulos de material anhisto de gran densidad electrónica (Fot. 25), que generalmente se encuentran rodeados de lisosomas y vesículas claras, y que ocasionalmente presenta, en algunas

zonas, un material de aspecto similar al de la capa anhisto de esta membrana. Estos acúmulos de forma irregular suelen mostrar una porción superior mas ancha y otra inferior más delgada, que, a modo de pedículo, se une al resto del componente anhisto. Estas alteraciones son más frecuentes en el tercio interno del limbo espiral, en especial a nivel del vértice.

La porción libre, de aspecto fibrilar, presenta gran cantidad de espacios vacios (Fot. 24) de contorno irregular y de distinto tamaño, que no muestran un límite de separación con las fibras que componen la membrana. Este último hecho aparece a partir de 2E en sentido ascendente, siendo, al igual que los acúmulos de material anhisto, mas evidente en V.

La membrana de Reissner presenta alteraciones evidentes fundamentalmente a nivel del vértice. Las células de la cara en dolinfática poseen gran cantidad de microvillis y vesículas de micropinocitosis; el nucleo es quizá algo mas irregular, pero el dato de mas interés es el aumento de organelas citoplasmáticas, consistente fundamentalmente en un aumento del R.E., algunas de cuyas vesículas aparecen de diámetro muy superior al normal (Fot. 26). La forma de las células es mas irregular, tanto a nivel de su polo endolinfático como de su polo perilinfático.

Es frecuente encontrar formaciones redondeadas de contenido electrónicamente poco denso que en su porción periférica presenta elementos de aspecto fibrilar y disposición esférica y concéntrica. También se observan algunos lisosomas, hecho poco frecuente en animales controles. La cara perilinfática (Fot.

26), al igual que la endolinfática contiene vesículas de R.E. dilatadas y algunas imágenes de pseudomielina.

La membrana basilar no presenta alteraciones de sus componentes propios, pero si de los vasos que discurren en su seno, y que se expresan primordialmente por un notable incremento de las vesículas de micropinocitosis (Fot. 27) habitualmente inexistentes a este nivel. Este hecho lo hemos encontrado en todos los animales estudiados y a nivel de todas las espiras, siendo mas manifiesto a nivel del vértice.

GRUPO B (KANAMICINA 15 DIAS)

LIMBO ESPIRAL

Las células que componen los complejos interdentes presentan una disposición, forma y tamaño similares a las que presentan los complejos interdentes en los animales controles, no encontrándose ahora el incremento del sistema vacuolar descrito a los 7 días.

El cambio más llamativo reside en las características del espacio extracelular, pues mientras que en el grupo anterior hallábamos los espacios canaliculares rara vez dilatados y, en general, interrumpidos por uniones comunicantes, aquí es tos espacios se encuentran ampliamente dilatados (Fot. 28). Sin embargo, es posible encontrar, en las áreas mas basales de estos complejos, la existencia ocasional de espacios canaliculares no dilatados, en los que las membranas de dos células próximas mantienen una trayectoria paralela aunque tortuosa (Fot. 29). Las dilataciones de los canaliculos se asocian con frecuencia a la aparición de puentes intercanaliculares (Fot. 28 flecha), derivados de la mayor resistencia a la separación en aquellas áreas donde existen dispositivos de unión. Junto con ello, es muy frecuente encontrar en estas células interden tales un relativo aumento de vacuolas (Fot. 28 *), probablemente intracelulares. Estas formaciones, regularmente tapizadas de microvillis, presentan una distribución absolutamente anóma la en relación con los animales controles, ya que en estos se suelen disponer en las porciones mas superficiales (subtectoriales) de los complejos interdentes, apareciendo aquí, por

el contrario, en regiones más profundas.

Un detalle citológico de interés es el hallazgo de un aumento relativo de inclusiones intracitoplásmicas con densidad electrónica similar a la de la grasa, que pueden adoptar el tamaño de pequeñísimos elementos (Fot. 29) o de grandes enclaves (Fot. 28) de tamaño comparable al de las vacuolas intracelulares antes descritas. En cualquier caso, y dado que estas células suelen tener en condiciones normales alguna inclusión lipídica esporádica, la valoración de este hallazgo morfológico deriva del estudio de gran cantidad de cortes ultrafinos, y es por ello que sería excesivamente extensa la ilustración completa de este fenómeno.

Las relaciones entre los polos apicales de las células interdentes y la membrana tectoria vienen a estar presididas, al igual que el grupo anterior, por un fenómeno de rarefacción de la capa anhistia y parte fibrilar de dicha membrana, que muestra así un aspecto multihoradado coincidiendo con los puntos de afloramiento de los complejos interdentes (Fot. 28).

El estroma del limbo (corion interno) presenta cambios morfológicos de interés. Entre ellos ha de destacarse el aumento de densidad de elementos formes (fibras y células), que en algunas regiones se hace especialmente evidente (Fot. 30). El aumento de densidad celular coincide normalmente con una morfología celular especialmente abigarrada, con aparición de citoplasmas aplanados en estos elementos (Fig. 30). Esta imagen se origina por un aumento de las prolongaciones de estas células.

las, que además suelen ser filiformes y profusamente ramificadas, relacionandose en muchos casos con las de células vecinas.

Otro hecho evidente, que se puede observar en cualquier célula de las que aquí estamos tratando, es la existencia de un halo claro pericelular (Fot. 30) que evidentemente, cuando la densidad citológica es grande, viene a contribuir a una menor cantidad de sustancia fundamental. Este hecho (la disminución de sustancia fundamental) es difícilmente valorable sin considerar estudios cuantitativos de este área; dichos estudios se están realizando en este momento en nuestro laboratorio, y no lo hemos incluido en la exposición de estos resultados por razones obvias. En cualquier caso, creemos que debe existir, y así lo comentaremos en la discusión, alguna interrelación, mediada por un status hidroionico determinado, entre la mayor angostura de los tabiques que conforman el panal de estas células y las dimensiones del halo claro pericelular.

El núcleo celular, como es habitual en este tipo de células, presenta una forma irregular, con cromatina distribuida en grumos de características normales. El citoplasma muestra, en comparación con los animales controles, dos hallazgos de interés, como son un leve aumento de densidad hialoplasmica y la existencia de abundantes cuerpos mitocondriales de forma alargada o redondeada (Fot. 30). Junto con ello es notorio un discreto aumento de pequeñas vesículas claras, de las consideradas ordinariamente como de endocitosis. Estas células estrelladas típicas del corion interno, en este grupo experi-

mental, presentan imágenes de fagocitosis (Fot. 31) con gran cantidad de lisosomas y restos fagocitados en su interior así como la presencia de pseudopodos característicos de este fenómeno.

La sustancia fundamental, profusamente vascularizada en este área, presenta, como quedó enunciado anteriormente, áreas de diferente densidad, en relación con la existencia o no de estructuras fibrilares. En este sentido, los halos claros que describieramos en las áreas de máxima densidad celular se presentan de igual modo en las zonas perivasculares (Fot. 30). El hecho de que los vasos capilares de este área tengan un manguito claro por ausencia fibrilar, no es en sí un hallazgo patológico, si bien en ocasiones llama la atención su desmesurado tamaño respecto a la luz vascular (Fot. 30) o, al revés, la casi ausencia del mismo en vasos de gran talla (Fot. 32). Junto con ello, otro hecho destacable de la morfología de la sustancia fundamental es el hallazgo de restos celulares (probablemente resultantes de la necrobiosis de células completas) que aparecen en relación con espacios claros perivasculares (Fot. 32) o en cualquier otra localización del eje límbico.

Las células del surco espiral interno en el transcurso de los repetidos exámenes realizados en este grupo de animales, guardan el patrón ultraestructural normal en comparación con los animales controles, y hemos de indicar que no exhiben las alteraciones del sistema vacuolar que encontrábamos a este nivel en el grupo de Kanamicina 7 días.

REGION INTERNA

1- Células marginales

El estudio de las células marginales revela un detalle morfológico que, en cierto modo, y como veremos mas adelante, podemos hacer extensivo a las restantes estructuras celulares que componen la región interna. El citoplasma de estas células, transparente e inexpressivo en los animales controles, muestra en este grupo (Fot. 33) la aparición de cuerpos lisosomales de gran complejidad y diversidad en cuanto a su morfología. Se trata de corpúsculos constituidos por zonas de densidad electro-microscópica similar a la de los lípidos asociadas con otras de mayor o menor osmiofilia, lo que confiere al conjunto del en clave un marcado polimorfismo. Estos elementos se encuentran distribuidos al azar en el seno del citoplasma de estas células, y fundamentalmente en la zona apical.

Por otro lado, las células de Deiters internas (Fot. 36) presentan unas características ultraestructurales dignas de ser mencionadas. A este nivel aparecen grandes espacios electrónicamente claros, que contienen algunas mitocondrias de tamaño mayor del habitual, con matriz densa y crestas dilatadas y transparentes.

2- Células ciliadas internas

Las c.c.i. muestran algunos aspectos relevantes referidos potencialmente a la acción tóxica del antibiótico, y así, en lo que respecta al citoplasma celular es posible encontrar (Fots. 33 y 34) cuerpos densos, de tamaño variable, rodeados

por membrana, de forma redondeada y distribución anárquica en la región inmediatamente infracuticular o, al menos, en el tercio superior de la célula. Con gran frecuencia estos cuerpos densos lisosómicos se asocian con la aparición de cutículas de menor densidad electromicroscópica, cuya descripción pasamos a referir.

El polo apical de estas células muestra una gran abundancia de detalles de interés, como pueden ser el empalidecimiento de este área (Fot. 34), que en ocasiones aboca a que únicamente se puede distinguir la región cuticular del resto de la célula por el mantenimiento de las raíces de implantación de los cilios (Fot. 35). Por otra parte, es muy llamativa la coincidencia de polos apicales de trayecto más o menos rectilineo y cutícula total o parcialmente preservada (Fots. 33 y 34) con otros más irregulares, incurvados y en general no planos de aquellas otras células en las que desaparece este área densificada (Fot. 35). En estas últimas, es decir en las de mayor grado de lesión, es frecuente encontrar lugares donde el perfil celular está modificado, protruyendo el citoplasma hacia el espacio endolinfático (Fot. 35). Es posible que estas protusiones, por efecto de corte, aparezcan como formaciones flotantes en la endolinfa (Fot. 24). Por otro lado, estas células alteradas muestran una acusada tendencia a perder las raíces ciliares, no tanto en su implantación como en el seno del estereciliopropiamente dicho (Fot. 35). Como es norma en patología coclear, esta alteración dista de ser sistemática, y, de

hecho, las imágenes de MEB (Fot. 40) muestran células de penacho totalmente abatido (correlacionable con las de cutículas claras y ejes ciliares perdidos) junto a otras que mantienen parcialmente su polo ciliar y que podríamos hacer coincidir con estructuras apicales solo parcialmente lisadas.

Referente al resto del citoplasma celular, muestra de forma constante estructuras tubulares de $\overset{\circ}{A}$ de espesor, que se distribuyen profusamente en toda la amplitud de la matriz hialoplásmica (Fots. 33 y 34); junto a este dato tenemos que reseñar la existencia ocasional de alguna cisterna de R.E. en variable estado de dilatación, así como una cierta tendencia a formar estructuras lamelares similares a cuerpos mielinoideos (Fot. 33).

Como quedó dicho en el preambulo, y siempre que exista un patrón lesional espiral, reservamos para el final de cada apartado la descripción topográfica de las lesiones. Así, en este caso, de las lesiones de la región interna (tanto las de las células ciliadas internas como de las marginales), la presencia de lisosomas es constante y evidente a todos los niveles de la coclea.

Las alteraciones cuticulares son mucho mas intensas (cualitativa y cuantitativamente) a nivel apical, encontrándose ya alteraciones en 2E. Hemos de decir también aquí que las lesiones de las células ciliadas internas se presentan de forma segmentaria, encontrandose áreas indemnes al lado de otras cuya morfología aparece francamente alterada.

REGION DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS

1- Células ciliadas externas

Las c.c.e. representan el lugar de máximo asiento en cuanto a variedad y cantidad de las lesiones inducidas por Kanamicina. En una observación panorámica de esta región externa, encontramos, con abstracción de la posible alteración del polo cuticular de la que hablaremos luego, lesiones a nivel de prácticamente todas las estructuras citoplásmicas de estas células (Fot. 37). Así, es frecuente encontrar citoplasmas, por lo demás de densidad normal, con áreas vacías de contorno redondeado u oval y disposición anárquica; el tamaño de estas áreas varía desde el de una mitocondria hasta incluso algo menos que el de un núcleo (Fot. 37). Con todo, estas áreas hiperclaras presentan una cierta tendencia a relacionarse con los sistemas de membranas fenestradas, presentándose incluso en ocasiones, en el interior de ellos (Fot. 37). Junto a estas zonas de rarefacción existen otras de densidad supernormal, normalmente situadas en las proximidades del eje mayor de la célula, y que poseen una estructura amorfa y una forma imprecisa o incluso anfractuosa (Fot. 37, flechas); estas zonas, cuando se examinan con detenimiento, parecen estar relacionadas con la cutícula (Fot. 37, detalle), un hecho sobre el que insistiremos más tarde.

El R.E. de las c.c.e., en animales normales, presenta dos únicas localizaciones, constituyendo o bien sistemas fenestrados o bien las formaciones concéntricas conocidas como

cuerpos de Hensen. Como es sabido este patrón topográfico del retículo es uno de los elementos que hacen de esta célula un componente de máxima especialización histológica. Con independencia de alguna posible dilatación de cisternas de R.E., lo mas llamativo del mismo es la alteración en la distribución de las cisternas. Asi, los sistemas de membranas fenestradas presentan aumentos segmentarios de espesor, que llegan en algunos puntos a la aposición de 30 o más cisternas (Fot. 37). Por otro lado, estas concentraciones suelen encontrarse entre dos segmentos sin membranas fenestradas, lo que origina una imagen de marcada asimetria. En cuanto a la otra forma de organizarse el R.E. en las células ciliadas, es decir, los cuerpos de Hensen, presentan aqui un aumento manifiesto, hallandose algunas células que poseen dos o mas de estos (Fot. 37).

El polo mundial de las células ciliadas externas, como portador de los elementos sensoriales, constituye una zona de máximo interés, dado el importante papel de estas estructuras. Se puede observar aquí. una patología muy evidente, que viene a estar presidida por la aparición tanto de cutículas de borde basal irregular y espesor no homogéneo como de alteraciones manifiestas de la zona superficial; describiremos secuencialmente las alteraciones a estos dos niveles. Los límites basales irregulares de algunas cutículas (Fots. 37, detalle y 38) se asocian constantemente con la presencia de agrupaciones corpusculares en las que se distinguen, además de pequeñas mitocondrias de contorno redondeado o facetado, abundantes lisosomas de as-

pecto sumamente abigarrado (Fot. 37, detalle). En todo caso, el grado de penetración de estas agrupaciones lisosómicas en la cutícula parece condicionar de forma decisiva la morfología del límite basal de la misma (Fot. 37 detalle), puesto que estos elementos nunca se encuentran incluidos en el espesor de la matriz densa. Esta desorganización cuticular puede determinar la aparición del material denso y homogéneo comentado al describir el hialoplasma (Fots. 37 y 37 detalle), explicándose así las formaciones densas e irregulares que anteriormente referíamos. En cualquier caso, y tras estudiar diferentes estadios de disolución cuticular, y al igual que sucedía con las c.c.i., parece ser muy evidente la mayor resistencia a la lesión de las raíces ciliares que se pueden observar como áreas mas o menos puntiformes y densas en cutículas por lo demás muy delgadas y de borde basal muy irregular y anfractuoso (Fot.38).

La zona superficial, endolinfática, de la cutícula presenta también muy evidentes alteraciones, como puedan ser la protrusión hacia el espacio endolinfático de la misma (Fots. 38 y 38 detalle) y la existencia de una distribución y morfología anómala de todas las diferenciaciones de membrana a este nivel. En este sentido, es posible observar con MEB diversos grados de lesión, dependiendo de su distribución topográfica (que será comentada mas adelante). En conjunto, podemos considerar la existencia de dos estadios lesionales diferentes, que podríamos denominar mediano (conservación parcial de algunos penachos erectos) e intenso (desestructuración generaliza-

da de todos los penachos y aparición de formas ciliares anormales). Las zonas de mediana lesión, que se presentan preeminentemente en las dos espiras basales de la coclea, vienen a constituir un patrón en el que coexisten zonas de rigidez ciliar disminuida (incluso pérdida del penacho ciliar completo), preferentemente distribuidas en las dos hileras mas externas (Fot. 40), y zonas con W ciliares más o menos intactas o incluso normales, que se sitúan preferentemente en la primera hilera. A este patrón se asocia una distribución y tamaño normales de otras diferenciaciones, como pueden ser las cutículas y microvellosidades (Fot. 40).

El estudio de las espiras mas apicales revela la morfología apuntada anteriormente como de mas grave lesión celular, apareciendo áreas completas de perdida de rigidez ciliar asociadas con pérdidas cuticulares completas y con una distribución y morfología anormales, tanto que las microvellosidades muestran una localización absolutamente inusual, al emerger de las placas cuticulares, en estrecha relación con las estructuras ciliares (Fot. 41, flechas). Por otra parte, el aspecto general de estas diferenciaciones corresponde a elementos mas turgentes de lo normal, muchos de ellos mostrándose como grandes abultamientos (Fot. 41, asterisco). En cuanto a los cilios correspondientes a este estado de lesión, presentan a su vez morfología y distribución normal, salvo cuando aparecen cilios 2 y tres veces mas gruesos y mas largos de lo normal (Fots. 41 y 42) que, además, pueden presentar implantaciones aberrantes, como

puede ser la zona limítrofe de la cutícula (Fot. 41). De otra parte existe un dato altamente correlacionable con las imágenes de MET como es la permanencia de raíces ciliares en cutícu las casi desnudas de cilios (Fot. 41 flechas). En algunos casos es evidente la existencia de un material grumoso, homogéneo e irregular asociado a estas áreas de máxima lesión (Fot. 41 G), y del que podemos afirmar, tras su observación en repetidas muestras, que no es el producto de contaminación ambiental, sino que se relaciona con un estadio final de destrucción ciliar, como comentaremos mas adelante. Asi pues estas áreas de lesión severa, localizadas como hemos dicho en las dos espi ras mas apicales de la coclea ofrecen, en conjunto, el aspecto de una gran tumefacción de todas las diferenciaciones apicales de las células ciliadas, entre las que destacan las microvello sidades y los cilios. Junto a ello, y como hecho también de una gran importancia, la localización espacial de estas dos dife renciaciones en la superficie endolinfática de la región externa es absolutamente anormal, tanto en lo que respecta a la im plantación ciliar como a la distribución microvellositaria.

2- Células de Deiters externas

En el estudio de cortes panorámicos (Fot. 37) del área de la papila auditiva de Kollicker es posible observar como da to llamativo la existencia de algunos elementos de soporte que presentan, además de una patente vacuolización que luego comen taremos, un aumento notable de densidad hialoplásmica cuando se las compara con estructuras similares adyacentes; el contor

no celular de los cuerpos se muestra en ocasiones irregular. Un estudio mas detallado del cuerpo de estas células de hialoplasma mas denso (Fot. 43) permite observar la existencia de algunos cuerpos mitocondriales junto con haces microtubulares dispersos, y, sobre todo, la existencia de claras uniones comunicantes (Fot. 43, detalle). En otras ocasiones las células de Deiters presentan imágenes muy peculiares, con vesículas claras redondeadas cuya membrana parece invaginarse sobre si misma lo que ofrece una imagen de vesículas concéntricas o de vesícula sesil fijada por extremo a la membrana de la cisterna (Fot. 44) En ocasiones este extraño corpúsculo se encuentra profusamente distribuido en áreas amplias de las células de Deiters (Fot. 44).

En lo que respecta a las falániges, es posible hacer extensible alguno de los hallazgos descritos para el cuerpo, y así es posible observar prolongaciones muy delgadas (Fot. 37, detalle) que muestran grandes dilataciones en su seno, con una absoluta carencia de su característico eje microtubular; es quizá este hecho el que permite una perfecta correlación con las imágenes de MEB, en las que, preferentemente en espiras apicales, es posible observar una manifiesta disminución (Fot. 41) de las abundantísimas microvellosidades que normalmente tapizan la superficie endolinfática de estas células. De otra parte, las imágenes panorámicas tomadas con MEB permiten demostrar no solo una distribución anómala de las diferenciaciones superficiales de la papila auditiva sino también una disposi-

ción patológica de la membrana reticular, encontrándose en múltiples ocasiones células ciliadas por fuera y por dentro de las líneas perfectamente trazadas por otra parte en animales controles. Este hecho es perfectamente correlacionable con algunas imágenes de colapso apical de las falanges de Deiters, existiendo falanges sin prácticamente contacto con el espacio endolinfático junto a otras que presentan áreas extensas a la endolinfa (Fot. 38, flechas).

REGION EXTERNA

1- Células de Hensen

Las células de Hensen, que normalmente presentan inclusiones lipídicas a partir de la parte media de la segunda espira, muestran en este grupo experimental (Fots. 45 y 46) un aumento manifiesto de estas estructuras fundamentalmente a nivel de 3E y V. Las inclusiones, que ocupan prácticamente todo el citoplasma celular (Fot. 45) se expulsan a la endolinfa según la mecánica normal, de suerte que los orificios de expulsión a este nivel son mas abundantes y de mayor tamaño que las que se observan en animales controles.

2- Células de la prominencia espiral

El epitelio superficial de la prominencia muestra un aspecto especialmente abigarrado, dado que es posible observar en cuerpos celulares de mayor espesor que lo normal, una gran riqueza de organelas intracelulares, ademas de un contorno

especialmente irregular que pasamos a comentar (Fots. 47 y 47 detalle A). Los bordes de contacto lateral de la célula presentan los dispositivos de unión y las áreas de aposición que hallamos igualmente en los animales controles, pero en la cara directamente apoyada sobre la membrana basal, se observa, de forma segmentaria dentro de cada una de las células, un laberinto basal de una gran irregularidad. Este dispositivo parece tender a conformar un sistema canalicular en directa continuación con el sistema de interdigitaciones latero-laterales de las células entre si (Fot. 47, detalle, A, flechas).

Las características citoplásmicas de estas células, no merecen mas comentario que el de consignar un gran aumento de los microtúbulos y de las cisternas de retículo endoplasmico liso, que aunque son abundantes en animales controles, llegan a impresionar cuando se observan en detalle las imágenes correspondientes a este grupo experimental (Fot. 37, detalle, A).

3- Células del surco externo

Las células del surco externo presentan, en algunas áreas determinadas, una morfología específica de su intersticio, y asi, este elemento también denominado "sistema canalicular de las células del surco" presenta unas evaginaciones filiformes y largas de membrana (Fot. 48) que tienden a tabicar el espacio antes mencionado, que muestra, por otra parte, una dimensión en conjunto mucho mayor que en los animales controles, donde las evaginaciones incluídas en los canaliculos mucho mas estrechos muestran una gran tendencia a empaquetarse y arrollar

se sobre si mismos.

4- Células del corion externo

Como es sabido el denominado corion externo de la escala media, corresponde a un tejido poco y mal estudiado en las monografías al uso, siendo así que la rigurosa tipificación de las lesiones a este nivel deben realizarse siempre con la cautela que corresponde a un territorio en alto grado enigmático. Como hallazgos morfológicos fuera de toda duda reseñaremos la existencia de cuerpos intracelulares constituidos por un material homogéneo de densidad electromicroscópica media envuelto y tabicado por otro de mayor densidad y aspecto fibrilar, poseyendo todo este conjunto una forma tendente a la esfericidad (Fots. 47 y 47 detalle, B). La disposición de estos peculiares elementos en el contexto del cuerpo celular no presenta ningún patrón fijo, pudiendo aparecer tanto en las zonas perinucleares (Fot. 47 detalle, B) como en cualquier otro área de la célula. Estos corpúsculos, hasta ahora descritos con estructura mixta electrodensa y electrolúcida, pueden, en otras ocasiones, mostrar un predominio absoluto del segundo elemento, apareciendo en estos casos con una densidad similar a la de la grasa (Fot. 49).

En cuanto al intersticio de este tejido muestra, en los animales de este grupo, un interés especial, referido singularmente a la banda macular dispuesta inmediatamente subyacente a la membrana basal del epitelio de la prominencia espiral. Este área se muestra ocupada por una gran cantidad de

las estructuras tubulo-filamentosas características de la sustancia fundamental de este tejido (Fots. 47 y 47 A, detalle). Por lo demás, el intersticio de las zonas más profundas de la prominencia, con la salvedad del área en el que las células del corion presentan largas zonas de aposición descritas por otros autores, muestra un aspecto mucho más tortuoso de lo habitual, con deshilachamiento de los contornos celulares a este nivel, así como con la existencia de espacios más dilatados de lo habitual (Fot. 47 flechas).

Las estructuras vasculares a este nivel, en animales controles, están constituidas por un endotelio continuo y sin pinocitosis, similar al que se encuentra al estudiar los capilares del sistema nervioso central, pero al estudiar los animales de este grupo experimental es posible observar una gran abundancia de vesículas tanto en el espesor como en los límites de la pared de estas estructuras (Fot. 50).

5- Estria vascular

La estria vascular de este grupo muestra peculiaridades morfológicas dignas de ser mencionadas y especialmente en la que se refiere al aspecto general de esta estructura. La capa basal muestra en estos animales la misma aposición que en los controles, si bien resulta muy evidente una disminución (y en ocasiones desaparición) de estos dispositivos de unión (Fot. 51). Además de esto, los cuerpos celulares resultan en cuanto a su concentración en organelas, altamente inexpresivos, predominando un aspecto homogéneo, de mediana densidad electró-

nica, en la observación panorámica de estos elementos (Fo.51). Llama la atención, ocasionalmente, el hallazgo de inclusiones intracitoplásmicas con densidad electrónica similar a la de la grasa, con forma redondeada y distribuidas de forma anárquica en todo el conjunto de las células de esta capa.

En la capa de células superficiales se situa otro hallazgo de interés patológico, que es la existencia de áreas de forma oval de rarefacción citoplásmica (Fot. 52), de aspecto general similar a lo que describieramos al hablar de las células del corion externo y que se ilustra en la Fot. 47, detalle, B.

OTRAS ESTRUCTURAS

1- Membrana basilar

La membrana basilar, considerada en conjunto y comparándola con los animales controles, no muestra ninguna alteración ni de sus células ni de su capa fibrilar y homogénea, pero si en lo que respecta a la citoarquitectura de las estructuras vasculares que circulan por su seno. Los capilares de esta estructura, que en los animales controles presentan un en dotelio fino, liso y carente de vesículas micropinocitóticas, tienen un aspecto radicalmente opuesto en este grupo, de modo que los endotelios presentan una forma altamente irregular (in cluso llegar a emitir invaginaciones digitiformes (Fot.53)) que da a la luz un contorno festoneado. Por otra parte, otro dato de interés es el hallazgo de abundantes vacuolas micropi-

nocitóticas en el espesor de la pared capilar (Fot. 53).

Un hallazgo fortuito y excepcional referido a las células propias de la membrana basilar es el de cuerpos organizados en el interior de estos elementos (Fot. 54) y constituidos por un material flocular asociado con membranas irregularmente arrolladas, conformando el conjunto un corpúsculo redondeado u oval de grandes dimensiones.

2- Membrana de Reissner

La membrana de Reissner presenta una cara endolinfática constituida por células en las que existe una correspondencia entre el grosor y la densidad de su citoplasma, y así coincide el hecho de que las células de matriz mas clara son aquellas de mayor espesor (comparar células A y B de la Fot. 55). Las células anchas, de matriz clara, poseen, por otra parte, un retículo endoplásmico en variable estado de dilatación, mostrando además una menor cantidad relativa de mitocondrias con arreglo a su tamaño (Fot. 55).

La cara perilinfática muestra en áreas determinadas una extrema finura del citoplasma de sus células, mostrandose este discontinuo con mayor frecuencia de lo habitual (Fot. 55, flechas)

1-1

GRUPO C (KANAMICINA, 30 DIAS)

LIMBO ESPIRAL

Los complejos de células interdentes del limbo espi-
ral de los animales sacrificados a los 30 días del comienzo
del experimento presentan aspectos morfológicos absolutamente
diferentes de los que hemos venido observando en los grupos an-
teriores. La forma general de organizarse los complejos sola-
mente puede adivinarse gracias al mantenimiento del estuche ti-
sular que es el corion límbico (Fot. 56), dado que tanto la
forma de estos elementos como las diferenciaciones de membrana
que habitualmente muestran varía notablemente. De este modo,
los contornos de las células interdentes rara vez contactan
entre sí y poseen un perfil en el que predominan las líneas cón-
cavas y los contornos geográficos (Fot. 56). Debido a estos dos
hechos, la morfología del espacio intercelular está considera-
blemente alterada, ya que las habitualmente estrechas y labe-
ríticas hendiduras intercelulares se encuentran sumamente di-
latadas, hasta el punto de que, en ocasiones, los espacios ex-
tra e intracelulares del complejo de interdentes son cuanti-
tativamente semejantes (Fot. 56).

Por otro lado, las típicas interdigitaciones, dispues-
tas siempre tabicando la luz de estos canales en los animales
controles, han desaparecido prácticamente en su totalidad, lo
que puede atribuirse a la citada dilatación de las estructuras
canaliculares. Como es sabido, en las zonas de los canales in-
tercelulares de los complejos interdentes próximas a la mem-
brana basal aparecen proyecciones digitiformes de la membrana

que recuerdan dispositivos relacionados con la filtración de sustancias (poros en hendidura del glomérulo renal); en los animales de este grupo experimental, esta configuración ha desaparecido, de forma que las áreas ductales que muestran relación con el corion lúmbico están revestidas por afiladas prolongaciones lineales que dejan espacios libres en los que la membrana basal toma relación de contacto con la luz (Fot. 56, flechas), sin ninguna interposición de interdigitaciones.

La morfología propia del citoplasma está modificada en estos animales, dado que existe una notable densificación del mismo y una leve disminución de organelas (Fot. 56). Los polos superficiales (subtectoriales) presentan, a su vez, una extrema delgadez, con gran osmiofilia de su matriz hialoplásmica, coincidiendo todo ello con la aparición de grandes áreas vacías interpuestas entre ellos y la cara inferior de la membrana tectoria, delimitándose así grandes hendiduras a este nivel (Fot. 56).

El patrón descrito anteriormente es aplicable esencialmente a los tramos más apicales del caracol, en especial el apex y 3E; en 1E y 2E sin embargo, la morfología varía notablemente, apareciendo un aspecto casi contrapuesto con el de áreas apicales. A nivel basal las células interdentes poseen un contorno mucho más suavizado y una relación intercelular más estrecha que en los animales controles, determinando el que los canales intercelulares de este complejo presenten una luz relativamente pequeña en relación con animales controles; co



diendo con este hecho, el hialoplasma de estas células es mas electro-transparente, y las mitocondrias muestran tendencia a disponerse en las zonas de aproximación intercelular (canales) (Fot. 57). En una palabra, tanto la morfología del contorno celular como el aspecto del citoplasma ofrecen una imagen sugere de una disminución de los conductos por la gran turgencia de los cuerpos celulares (Fot. 57).

Por si esto fuera poco, los polos superficiales (sub-tectoriales) además de ser tan claros como los profundos en cuanto a su matriz citoplasmica, son mucho mas gruesos que en espiras altas, presentando un contorno irregular que contrasta con la trayectoria rectilínea observada a este nivel en los polos apicales (Fot. 57). Los espacios sub-tectoriales de aspecto hendidural referidos a espiras apicales pueden observarse a su vez también a este nivel.

Como detalle morfológico relativamente frecuente es posible observar, distribuidos anárquicamente, espacios citoplasmicos redondeados u ovals, que poseen una densidad electrónica media, similar a la de la grasa y que a veces estan rodeados por mitocondrias (Fot. 57). En un corte afortunado hemos podido observar uno de estos espacios situado en el punto de afloramiento del polo apical de una célula interdental, donde era evidente la protrusión de la gota lipídica, solo separada de la tectoria por un fino halo citoplásmico. En conjunto, la imagen (Fot. 57) parece sugerir una expulsión de gotas lipídicas al espacio endolinfático.

El corion lúbico presenta aspectos superponibles con los observados en el grupo experimental anterior, y así, además de existir un aumento manifiesto de la celularidad, se observan también endotelios vasculares inusualmente provistos de vesículas micropinocitóticas y rodeadas de un halo perivascular en el que con relativa frecuencia aparecen restos celulares asociados, en este caso, con densos paquetes de filamentos (Fot. 58).

REGION INTERNA

La región interna presenta aspectos parecidos a los descritos anteriormente (Kanamicina, 15 días), referidos inicialmente al hallazgo de patología en las células marginales, que por haber sido comentadas prolijamente en el capítulo anterior, nos obstendremos de referir aquí.

Es probablemente caracter singular de este grupo el encontrar por primera vez alteraciones intensas a nivel de las células de soporte, que vienen a estar presididas por un aumento general de volumen de toda la célula. Así, la expansión citoplásmica que se introduce entre el pilar y la c.c.i. se encuentra aumentada de espesor (y disminuida en densidad) (Fot. 61), en tanto que, por su parte, el afloramiento endolinfático de la célula de Deiters no muestra cambios excesivos.

Por otra parte, un estudio detallado del citoplasma de esta célula permite demostrar que las variaciones de su forma no están solo referidas a las relaciones con los pilares y

células ciliadas, sino también con respecto al afloramiento de la lengüeta interna, que muestra con gran frecuencia un contorno especialmente irregular, en ocasiones abollonado y provisto como es normal, de un ribete de microvellosidades (Fot. 59). También es frecuente encontrar cuerpos intracitoplasmáticos de aspecto lisosomal, que muestran forma redondeada (mas o menos variable) y que constituidos por una membrana que engloba una porción de gran densidad electrónica y otra con aspecto parecido con la grasa (Fot. 59).

Las células ciliadas internas presentan por primera vez en el estudio experimental con Kanamicina una imagen de franca lesión. En este sentido es posible observar una pérdida general de la forma de su cuerpo celular y así, la cutícula lejos de mantener la forma rectilínea que la caracteriza muestra una superficie irregular o abollonada (Fot. 59).

Respecto al citoplasma celular, presenta detalles morfológicos de interés a dos niveles, a saber, en la región cuticular y en las características de sus organelas citoplásmicas. La región cuticular, que en los animales controles aparece como una zona densa, homogénea y granular, pierda aquí estas peculiaridades (Fot. 59) de una manera similar a lo que ocurría en el grupo anterior en la región de las células ciliadas externas. Así pues, la región que normalmente debiera estar ocupada por ese material denso y homogéneo se distingue solamente, y a duras penas por la persistencia de las áreas correspondientes a la implantación ciliar (Fot. 59). Un detalle significativo es

la visualización del citoesqueleto (Fot. 59, flechas) en las uniones intercelulares, que habitualmente está enmascarado por el material cuticular.

Respecto al resto del citoplasma no apical, merece la pena destacarse el hallazgo de corpúsculos con áreas de diferente densidad electrónica, rodeados por una membrana y de forma muy variable, que se encuentran distribuidos anárquicamente en el seno del citoplasma celular (Fot. 60, asterisco). Estos corpúsculos pueden alcanzar un alto grado de complejidad, bien por tendencia a la fusión de varios de ellos, o bien por el arrollamiento de su membrana en sentido concéntrico o espiralado (Fot. 60).

A la vista de la imagen descrita, creemos de máxima importancia el estudio del grado de afectación de la coclea por este tipo de lesión así como la distribución espiral que pudiera tener. En los animales de este grupo experimental, la máxima incidencia de células afectadas aparece en el vértice, donde prácticamente la totalidad de las células ciliadas internas presentan la lesión antes descrita; a partir de aquí la lesión comienza a perder intensidad hasta llegar a 2E, en cuyos tramos más basales las células ciliadas externas muestran las características morfológicas de los animales controles.

REGION DE LOS PILARES

Las células de los pilares presentan datos morfológicos de gran interés en esta serie experimental. La forma de estas células se mantiene, en general, sin graves alteraciones, con la excepción de algunas excavaciones o deshilachamientos mas o menos profundos (Fot. 61, flechas) derivados del aumento evidente de proyecciones digitiformes que suelen evidenciarse fundamentalmente en las caras lateral y basal de la articulación capital.

No obstante, lo más llamativo de estas células es el aspecto general de su hialoplasma. Aunque la alteración citoplásmica afecta difusamente a toda la célula, es quizá más evidente, por su intensidad, a nivel de la articulación capital. De este modo, llama poderosamente la atención la alteración manifiesta de la densidad celular (Fot. 61), produciéndose un gran contraste entre la matriz citoplásmica (ligeramente más clara de lo normal) y las áreas de refuerzo reticular (condensaciones capitales) que aparecen extraordinariamente densas y compactas. Por otro lado, la matriz citoplásmica muestra dos hechos de interés evidente, esto es, la aparición de áreas claras lacunares de gran tamaño, distribuidas profusa y difusamente en toda la extensión de las células, y la distorsión, en condiciones normales, de la regular trayectoria del eje microtúbulo-filamentoso; esta deformación es tal que la inserción de estas estructuras sobre la zona densa capital no se llega a verificar con toda la amplitud habitual, produciéndose una pro

yección preferente de estos elementos en la lengüeta que emite el pilar interno hacia la primera hilera de células sensoriales (Fot. 61). Otros detalles, quizá no tan llamativos como los ya comentados, son la existencia de lisosomas con contenido de densidad variable, a veces semejante a la de la grasa y a veces mas densa; estos lisosomas suelen estar rodeados de un halo claro cuando residen en el espesor del material que rodea a la zona de unión (Fot. 61, asterisco).

REGION DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS

1- Células ciliadas externas

Una gran parte de las características patológicas que presentan las c.c.e. pueden asimilarse con las descritas en el grupo anterior. De este modo, y con el ánimo de evitar reiteraciones, nos referimos a lo tratado en el capítulo anterior, reñando aquí unicamente los datos diferenciales que corresponden a los animales sacrificados a los 30 dias del comienzo de la experiencia. De estos, quiza el de mayor interés sea la relativamente mayor afectación de los tramos espirales correspondientes a la segunda vuelta del caracol, y es por ello que centraremos la descripción a este nivel, ya que la 1E muestra las características habituales, tanto con MET como con MEB.

Las c.c.e. de 2E presentan, en estos animales, un mantenimiento absoluto de su forma, tanto respecto al cuerpo como en lo que a la cutícula se refiere, si bien, como luego veremos, no podemos decir lo mismo de las diferenciaciones de mem-

brana sobre las que esta última región se apoya. El citoplasma celular muestra, incluso en localizaciones basales de esta segunda espira (Fot. 62), gran cantidad de vacuolas claras, que, en ocasiones, tienden a dar un aspecto aplanado a las células. En estos casos, las mitocondrias se concentran en los tractos entre las vacuolas (Fot. 62).

En cuanto a las alteraciones de los penachos ciliares las mas llamativas aparecen en la tercera hilera (Fots. 64 y 65), donde puede observarse perdida de W ciliares completas y, en general, una alteración de la geometria (que a estos niveles del caracol suele ser especialmente precisa) de los polos mundiales de las c.c.e. Las células con perdida ciliares completas muestran una sustitución del área cuticular, habitualmente lisa, por una superficie rica en microvellosidades, difícilmente distinguible, quizás por este hecho, de las prolongaciones falángicas de la tercera hilera de células de Deiters (Fot. 64). A pesar de la aparente indemnidad de los cilios que aunque caídos suelen mantener su identidad, tamaño, forma y disposición habitual, una observación detallada de los mismos permite observar imágenes de precoz fusión ciliar (Fot. 63) en las que los puntos de contacto poseen un área de mayor densidad electrónica que el resto del tallo.

2- Células de Deiters externas

Las células de Deiters externas presentan un patrón lesional espiral de gran similitud con el que poseen las c.c.e. y así las áreas menos lesionadas corresponden a los tramos

más inferiores de la segunda espira y espira basal. Aunque las lesiones de estas estructuras no difieren en nada de las que muestran los animales sacrificados a los 15 días del comienzo de la experiencia, si existe un dato que sólo hemos encontrado en este grupo experimental. La coincidencia a nivel de la segunda espira y comienzo de la tercera de prolongaciones falán-gicas de contorno extremadamente irregular, con largas proyecciones y aspecto anfractuoso de algunas zonas de su membrana (Fot. 66), se han observado por primera vez en este grupo; suelen estar provistas de un contenido extremadamente denso, tachonado en toda su extensión de zonas redondeadas, pequeñas y claras que enmascaran prácticamente la identidad de la estructura de no ser por la presencia esporádica de haces micro-tubulares.

REGION EXTERNA

En este grupo de animales los hallazgos de esta región se limitan al corion externo, estando fundamentalmente afectadas las células de este tejido. Estas células presentan a todos los niveles de la coclea, formaciones irregulares (Fot.67) de densidad electrónica similar a la grasa, de límites precisos pero sin membrana; otras estructuras de características similares a las descritas en grupos anteriores, que se encuentran generalmente en contacto con las anteriormente descritas.

Por otra parte, los vasos presentan gran cantidad de vesículas de micropinocitosis, cuyas imágenes no ilustramos por ser en todo comparables con las descritas en el grupo precedente (ver Fot. 50).

MEMBRANA BASILAR

La membrana basilar presenta datos significativos referidos esencialmente a su componente celular. Las células de revestimiento timpánico, que en condiciones normales poseen un citoplasma de poco espesor, distribuido preferentemente en sus prolongaciones y con un porcentaje de organelas no significativo, muestra alteraciones tanto en lo que respecta a su forma como a su constitución; así, es posible observar un inusual engrosamiento de algunas de las prolongaciones celulares (Fot. 68) que, por otra parte, presentan en su interior además de cisternas dilatadas, pequeñas invaginaciones y microvesículas muy abundantes (Fot. 68). Por otro lado, llama la atención el hallazgo, en mayor proporción de lo normal, de cuerpos densos rodeados de membrana y de microtúbulos que surcan en muchos casos el citoplasma celular (Fot. 68). La densidad de la matriz citoplásmica, sin ser especialmente densa o especialmente clara en ningún caso, si presenta diferente densidad en unas células y otras, coincidiendo en ser las más oscuras aquellas que contienen cisternas dilatadas, micropinocitosis, etc. (Fot. 68).

Los vasos poseen algunas peculiaridades anormales, que ya apuntamos en capítulos anteriores. Las luces capilares

suelen mostrar diferente grado de colapso, presentando una forma especialmente irregular no solo por el hecho antes comentado sino por poseer gran irregularidad en lo que se refiere a los contornos celulares de su membrana (Fot. 69). Las irregularidades mencionadas, localizadas tanto en la cara luminal como en la cara basal de la pared endotelial, pueden ser grandes abultamientos o depresiones, o lo que es más frecuente, pequeñas invaginaciones de membrana que normalmente suelen poseer pequeñas microvacuolas intracelulares en relación con ellas (Fot. 69). De otra parte, es muy frecuente observar algunas dilataciones cisternales sin contenido y, lo que es más llamativo referido al citoplasma celular, gran abundancia de las microvesículas citadas en el párrafo anterior; estos pequeños elementos en ocasiones pueden verse asociados bajo una única membrana que engloba 6 ó 7 de estos elementos constituyéndose así cuerpos de múltiples vesículas (Fot. 69, flechas). También debemos destacar la existencia frecuente de mitocondrias redondeadas o alargadas, habitualmente de matriz muy densa y crestas claras (Fot. 69).

121

S E R I E - I I

123

GRUPO E (GENTAMICINA, 7 DIAS)

LIMBO ESPIRAL

En el estudio de los animales tratados con Gentamicina y sacrificados en el 7° día del experimento, la región del limbo espiral presenta, en general, discreta patología, apareciendo algunos complejos interdentes del limbo alterados. La alteración radica, fundamentalmente, a nivel de la forma celular y, secundariamente, en la matriz citoplásmica y sus organelas. Las células de los complejos alterados muestran contornos irregulares, adoptando generalmente la tendencia a remedar lentes biconcavas (Fot. 70). Las líneas cóncavas que delimitan los contornos celulares solamente ven interrumpida su trayectoria por la existencia de evaginaciones filiformes o digitiformes de la membrana (Fot. 70), sin duda recuerdo de las que se observan tabicando los canalículos en condiciones normales. Es lógico pensar que las caras laterales, cóncavas, de dos células adyacentes tiendan a delimitar conductos ovales o fusiformes de gran magnitud, los cuales se encuentran electrónicamente vacíos (Fot. 70). Un hecho que no hemos observado en las células interdentes de ninguna de las series experimentales citadas hasta aquí, es la presencia, en las áreas de contacto de las células con la membrana basal, de profundas invaginaciones de la membrana, que presentan en su interior finos citopodios de aspecto microvellositario y tamaño variable (Fot. 70, asterisco). Formaciones similares se pueden observar en ocasiones, en zonas profundas, alejadas de la membrana basal y con formas no tan regulares, pudiendo adoptar cierto aspecto lobulado (Fot. 70).

La densidad hialoplásmica en estas áreas de lesión suelen ser bastante elevada, poseyendo las células un relativo aumento de organelas en relación con la menor extensión de su cuerpo celular (Fot. 70). Los polos superficiales (endolinfáticos) de estos elementos presentan, en las zonas de unión con células próximas, una marcada interdigitación de sus membranas (Fot. 70).

Las imágenes obtenidas de lesión avanzada de los complejos interdentes son fruto de la observación de espiras altas del caracol, donde, por otra parte, no constituyen la pauta general sino que podríamos decir que forman aproximadamente la mitad o algo más de los complejos observados. En espiras más basales, por el contrario, lo mas frecuente es observar una mayoría de elementos normales, entre los que se observa algunos canales intercelulares con una forma mas irregular de lo que es habitual y una luz también algo mayor de lo normal.

Las células del corion límbico presentan como características más llamativas un aumento en cantidad y en tamaño, que permite observar áreas en las que en una pequeñísima extensión de terreno pueden verse varios núcleos celulares (Fot. 71), cuando en condiciones normales es raro encontrar otra relación que no sea la de pequeñas y finas prolongaciones dispersas que rodean un cuerpo celular. Además de este hecho, la forma de las células es inusual, dado que, como dijimos, las prolongaciones se disponen en su mayor parte en las zonas próximas al soma, conformando a este nivel un enrejado laberíntico de aspecto

sinuoso (Fot. 71). Los núcleos celulares, que suelen portar uno o dos nucleolos, son con lo dicho hasta ahora, la mas llamativa de las estructuras celulares, puesto que presentan gran volumen y forma redondeada, estando frecuentemente escotados (Fot. 71).

REGION INTERNA

1- Células marginales y células de Deiters internas

Las células marginales, de disposición y forma habitual, presentan un citoplasma celular de matriz hialoplásmica poco densa, con algunos ribosomas y escasas vesículas de R.E., como es normal en estas células. Sin embargo, un hecho característico que aparece de forma sistemática en todos los animales, es la presencia de cuerpos densos de forma redondeada u oval, limitados por una membrana de contorno algo irregular en algunas ocasiones, que se suelen situar en la parte superior de la célula (Fot. 72), en aquella porción fina de citoplasma que a modo de lengüeta recubre la superficie endolinfática contactando con la prolongación mas interna de las células de Deiters internas.

Las células de Deiters internas presentan sus cuerpos con las mismas características que la porción superior de las células marginales, mostrando, además, algunos acúmulos de mitocondrias de forma redondeada u oval y dimensiones no muy grandes (Fot. 72). Estos hechos solamente los hemos encontrado a nivel de las espiras altas del caracol membranoso, fundamental

mente a nivel del vértice.

2- Células ciliadas internas

Las células ciliadas internas, elementos sensoriales de esta región, presentan hallazgos morfológicos dignos de ser analizados. El núcleo, de características habituales, se encuentra en el tercio inferior de la célula, es de forma oval y la cromatina presenta pequeños acúmulos irregulares de disposición periférica. El citoplasma de estos elementos está constituido por mitocondrias, vesículas de retículo endoplásmico, ribosomas y microtúbulos, siendo la porción superior de la misma la zona que presenta más interés morfológico, ya que en este área se encuentran las cutículas y los implantes ciliares. La cutícula, que se diferencia pobremente del resto del citoplasma celular, aparece disminuida en grosor (Fot. 72) y presenta, como hecho mas característico, una menor densidad electrónica (Fots. 73 y 74). Su superficie aparece con irregularidades, presentando excrecencias evidentes (Fot. 74) a modo de proyecciones que emergen hacia el espacio endococlear (Fot. 75). Por otra parte, su superficie endolinfática, normalmente lisa y desprovista de microvellosidades, presenta, de forma casi continua, microvillis, de extremo redondeado y sin eje central claro (Fot. 73), perfectamente correlacionable con las imágenes de MEB (Fot. 75).

Los cilios internos, de tamaño habitual, aparecen desorganizados, formando una línea discontinua de elementos (Fot. 75); algunos se encuentran caidos sobre la superficie cuticular.

El límite de estos estereocilios muestra irregularidades, a modo de excrecencias de pequeño tamaño (Fot. 73) que en algunas ocasiones producen un contorno aserrado de los mismos (Fot. 73, puntas de flechas). Por otro lado es frecuente observar imágenes de cilios intimamente unidos entre si (Fots. 74 y 75), que pueden encontrarse en grupos de dos o más elementos.

Las lesiones cuticulares antes descritas las hemos encontrado en todos los animales a partir de 2E en dirección apical si bien son mas intensas y manifiestas en 4E. Las alteraciones ciliares asimismo, aparecen fundamentalmente en las dos espiras mas superiores de la coclea.

REGION DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS

1- Células ciliadas externas

Las c.c.e. presentan ya alteraciones evidentes en lo que se refiere a su morfología y, como ahora veremos, en algunas espiras se encuentran afectadas las tres hileras de células ciliadas externas.

La forma y distribución de los cuerpos celulares aparece mas o menos conservada, aunque su contorno es algo irregular y en algunas ocasiones observamos parte de su citoplasma algo adelgazado (Fot. 76).

El retículo endoplásmico liso, de situación periférica y que normalmente conforma 2 ó 3 hileras de membrana fenestradas por fuera de las cuales se situa una banda continua de mitocondrias, de este grupo experimental aparece

focalmente aumentado (cinco o más hileras), y de forma constante aparecen vacuolas redondeadas u ovals de distintos tamaños en su seno. Este retículo endoplasmico alterado aparece en todas las células ciliadas externas analizadas, independientemente de su situación en el caracol membranoso. Por otra parte, también encontramos agrupaciones de vesículas de R.E. en el interior del citoplasma, de forma más o menos irregular, generalmente rodeadas de algunas mitocondrias (Fot. 76), recordando a como se agrupan en los denominados cuerpos de Hensen.

La densidad electrónica de la matriz hialoplásmica es la habitual y en su seno aparecen unas formaciones alargadas, redondeadas u ovals de contornos irregulares y poco netos, cuya densidad y estructura es en todo similar a la de las placas cuticulares de los polos mundiales de estas células (Fot. 76). Por otra parte, las cutículas de densidad normal, aparecen adelgazadas (Fot. 76) y de distribución irregular. Algunas células carecen parcialmente de ella (Fot. 76, flecha), presentando unicamente restos de la misma conectados por un fino pedículo a las uniones que establecen las c.c.e. y las expansiones falángicas. En estas ocasiones la parte superior de estas células aparece ocupada por gran cantidad de cuerpos densos de forma similar como ocurre en algunos grupos experimentales descritos anteriormente.

Concomitantemente con alteración cuticular, y en relación con ella, los penachos ciliares pierden su forma (Fots. 77 y 78), apareciendo masas de cilios algunas de las cuales

presentan sus elementos caídos sobre la superficie endolinfática. Aparte de esta desestructuración y pérdida de rigidez ciliar, existen áreas de pérdidas ciliares (Fot. 78), y en su lugar nos encontramos una superficie uniforme, cubierta completamente de microvellosidades y donde vagamente se aprecia el lugar antiguo de implantación de las células ciliadas externas perdidas (Fot. 78, asterisco).

Todas las alteraciones cuticulares y ciliares descritas en los párrafos precedentes aparecen fundamentalmente en espiras superiores de la coclea, habiéndose encontrado a partir de la tercera espira (Fot. 77) y siendo mucho más manifiesta en el vértice (Fot. 78). A nivel de la tercera espira, la lesión afecta fundamentalmente a las dos hileras más externas, estando la primera hilera de células ciliadas dentro de los límites de la normalidad. Las pérdidas ciliares a este nivel son pérdidas aisladas, de 1 ó 2 elementos, fundamentalmente localizados a nivel de la tercera hilera. En el apex estas manifestaciones son mucho más evidentes, estando incluso afectada la primera hilera de células ciliadas (Fot. 78).

Con respecto a la proliferación y dilatación del R.E. referido anteriormente, lo hemos encontrado de forma sistemática a partir de 2E en dirección ascendente, estando parcialmente afectada la espira basal.

2- Células de Deiters externas

Las células de Deiters externas aparecen, de forma segmentaria, como células de contorno irregular, forma alargada

y mucho mas estrechas de lo normal, sobre todo en su porción más basal, terminando practicamente en punta (Fot. 79). El núcleo, vagamente visible, es irregular, con abundantes indentaciones de su membrana y grumos groseros de cromatina, situados tanto en el centro como en la parte periférica del mismo. La matriz citoplásmica es extraordinariamente densa, casi negra (Fot.79), pudiendo reconocer la naturaleza de estos elementos por la presencia de haces de microtúbulos que recorren la célula en sentido longitudinal. Se observan, además, pequeñas vesículas redondeadas, de limites precisos y contenido ópticamente vacio, que; aunque se distribuyen por todo el citoplasma celular, tienden a acumularse alrededor de formaciones redondeadas o alargadas que recuerdan vagamente a mitocondrias. Estas células de Deiters alteradas se encuentran entre otras de morfología completamente normal, y las hemos observado siempre en la espira apical de todos los animales correspondientes a este grupo.

Las fibras nerviosas que circulan a este nivel entre los cuerpos celulares están, morfológicamente, dentro de los límites de la normalidad.

REGION EXTERNA

Las únicas alteraciones encontradas en la región externa corresponden al corion externo, presentando imágenes similares a las descritas en los grupos de Kanamicina. Así, las células del corion externo muestran una forma y distribución similar a la normal. En el citoplasma, aparte de algunas ve-

sículas de retículo endoplásmico dilatado, observamos unas formaciones más o menos redondeadas, de límites bien precisos, que contienen un material de aspecto fibrilar y densidad media que se distribuye anárquicamente dejando algunos espacios ópticamente vacíos (Fot. 80).

Por otra parte, los vasos del corion, fundamentalmente los que se encuentran a nivel del ligamento espiral, presentan un endotelio muy irregular, con finas prolongaciones de su citoplasma que tienden a cerrarse sobre si mismas, conformando espacios redondeados u ovales, aparentemente vacíos y separados del tejido adyacente por una membrana basal (Fot. 81).

MEMBRANA BASILAR

La membrana basilar mantiene su estructura general, excepto en lo que se refiere a los elementos vasculares. Los vasos a este nivel presentan un endotelio irregular, con finas prolongaciones tanto hacia el interior del vaso como hacia la parte periférica del mismo, en la cara no luminal (Fot. 82). El núcleo presenta grandes invaginaciones y evaginaciones, que le otorgan una forma francamente irregular. El citoplasma, de menor densidad electrónica de lo normal, presenta cisternas y vesículas de R.E., así como gran cantidad de vacuolas micropinocitóticas que no aparecen nunca a este nivel en los animales controles.

133

GRUPO F (GENTAMICINA, 15 DIAS)

LIMBO ESPIRAL

El limbo espiral de los animales pertenecientes a este grupo experimental, muestran, a nivel de los complejos interdentes, detalles morfológicos de interés, preferentemente en lo que respecta a la forma celular. En este caso, a diferencia del grupo anterior, los contornos de las células interdentes mas afectados solamente presentan aspectos anómalos en lo que se refiere a los contactos con células vecinas (Fot.84), mientras que las áreas de contacto con la membrana basal son normales, con excepción de algunas invaginaciones de forma esferoidea o lacunar de las que, como se mencionó en el caso anterior, surgen a su vez proyecciones o evaginaciones de membrana (Fot. 83, flechas).

En lo que se refiere a los restantes elementos de los complejos interdentes, solamente queremos mencionar una discreta disminución de organelas citoplásmicas en general, así como la aparición relativamente frecuente de espacios redondeados u ovals en el interior del citoplasma de las células ocupado por un contenido de densidad electrónica similar al de la grasa (Fot. 84).

La distribución espiral que presenta el hallazgo referido a los espacios intersticiales de tamaño y forma anormales, corresponde estrechamente con lo expuesto en el capítulo anterior, de tal forma que es frecuente observar las células interdentes de los tramos más basales de la coclea en las que los canales poseen la angostura habitual de los animales controles,

e incluso algo más de lo normal (Fot. 84).

En el curso de la observación de la cara más externa del limbo espiral, donde, como es sabido, se alojan las células mitradas, pudimos observar el hallazgo, junto a mitocondrias de características morfológicas normales, de cuerpos densos redondeados de tamaño variable entre y Å, que poseen en ocasiones áreas más claras o de densidad electrónica media (Fot. 85). Junto con ello, en la región más interna de estas células mitradas observamos un área rica en microvesículas algunas de las cuales se agrupan bajo una única membrana (Fot. . 85, flecha). Las células mitradas, que habitualmente proyectan finas prolongaciones que separan las células del surco interno de la membrana basal, pierden ocasionalmente esta propiedad, tornándose células de contorno irregular e incluso interdigitado, fenómeno que no hemos observado nunca en los animales controles (Fot. 85).

Las células inmediatamente más internas a las mitradas (células transicionales con los complejos interdentes del labio vestibular) también muestran un contorno irregular, con profundas invaginaciones y evaginaciones en la superficie de contacto con las células anteriormente citadas y que contrasta con la regular línea cóncava que estas células poseen en los animales controles; de otra parte, observamos en ellas la presencia de elementos densos, redondeados u ovals, que poseen en su soma además de áreas de densidad electrónica media parecida a las de la grasa (Fot.85,B, asterisco).

Respecto al eje del corion lmbico, presenta en este grupo cambios morfológicos altamente relevantes, ya que la morfología y la densidad de las células de este tejido varían notablemente. En este sentido, se observa un aumento de densidad celular muy elevado, mostrando estos elementos un contorno en sacabocados, del que parte, de forma ocasional, alguna fina proyección hacia la sustancia fundamental del corion lmbico, que ocasionalmente queda englobada (Fot. 83).

La red vascular de este, presenta peculiaridades morfológicas, como son el mantenimiento del aspecto redondeado de su luz capilar y el hallazgo de pequeñas invaginaciones y pequeñas vesículas claras acumuladas a todos los niveles, tanto en la superficie yuxtaluminal como en la superficie parabasal (Fot. 86).

REGION INTERNA

La región interna presenta cambios morfológicos de gran interés con respecto a los animales controles, asentando estos a todos los niveles de esta región aunque preferentemente en las zonas próximas al espacio endolinfático.

Las c.c.i., elementos principales de esta región, suelen mostrar distintos grados de alteración cuticular, que varían desde estructuras de parecida densidad a lo normal (Fot. 87) hasta estadios de densidad algo menor (Fot. 89) o de aspecto muy similar con el resto del citoplasma celular (Fot. 88). Coincidiendo con este último aspecto, se observan de forma oca

sional, áreas de rarefacción y vacuolización en las cercanías de algunas implantaciones ciliares (Fot. 88). En lo que respecta a la posible repercusión de esta morfología cuticular, se evidencia en las imágenes obtenidas con MEB por una imagen muy abigarrada, en la que se debe distinguir los siguientes hechos fundamentales, a saber: pérdida del plano lineal de la cutícula (excavaciones e irregularidades), material grumoso asociado a estructuras ciliares convolutas o de gran turgencia, perdidas ciliares abundantes, y desorganización de los cilios internos mas pequeños, que se muestran en su mayor parte conservados (Fot. 90). En relación con el material grumoso y homogéneo referido anteriormente debemos mencionar que solo se encuentra localizado de forma constante en las áreas próximas a donde existen cilios caídos y alterados en cuanto a su morfología, apareciendo ocasionalmente imágenes de continuidad entre estos elementos y la sustancia mencionada (Fot. 90, flechas).

Con referencia a las áreas no cuticulares de las cilias internas se observa en ellas, como dato más llamativo, el hallazgo ocasional de estructuras microtubulares y cisternas abundantes, que, de forma eventual, pueden hallarse con tendencia a la agrupación en haces de 8 ó 10 elementos (Fot. 88, flechas).

En cuanto a la distribución topográfica de estas lesiones en la coclea, las imágenes que podríamos calificar de gran desestructuración del polo apical (Fot. 90) se observan de preferencia en V y 3E, si bien la afectación, aunque con

menor intensidad, puede también encontrarse en las espiras más basales, siendo la espira basal el lugar que presenta menor alteración.

Las prolongaciones falángicas de las células de Deiters internas muestran, en su punto de afloramiento al espacio endolinfático, claras imágenes de pérdida de su patrón morfológico superficial, y así es posible observar que el contorno de esta zona es absolutamente irregular, con grandes protrusiones hacia el exterior asociadas habitualmente a un sistema cisternal muy abundante (Fot. 87). En otras ocasiones el dato más llamativo se observa a niveles mas profundos de la célula, donde es posible encontrar, ocasionalmente, lisosomas irregulares esferoideos, de tamaño variable y un contenido con áreas de densidad electrónica variable, mas densas ocupando una disposición excéntrica en el seno del corpúsculo (Fot. 89).

PILARES

Las células de los pilares muestran, en general, una notable alteración de su sistema de microtúbulos y microfilamentos, evidenciable tanto por la pérdida de su trayecto rectilíneo (que se torna sinuoso en la mayoría de los casos) como por la disminución en número de estos elementos (Fots. 91 y 92). Este último hecho es especialmente visible en la región del tallo de los pilares, donde en animales controles es constante observar como el eje de microtúbulos de regularidad geométrica ocupa la practicamente totalidad del citoplasma a este

nivel. En las imágenes de este área de los animales tratados se observa unicamente la presencia de algunos haces dispersos, con niveles del tallo en los que el eje queda practicamente interrumpido (Fot. 92); junto con ello, se suele observar la presencia de agrupaciones de contornos más o menos redondeados o irregulares, compuesto por un material denso, homogéneo y finamente granular, en disposición no específica (Fot. 92). Por otro lado, llama en ocasiones la atención la aparición de cuerpor de forma redondeada u oval, rodeados por membrana con áreas de densidad elevada y media (Fot. 91). Otro hallazgo de inte-rés, es la presencia de espacios claros rodeados por membrana que poseen a su alrededor un halo de mayor densidad electromicroscópica, muy rico en vacuolas claras y oscuras (Fot. 91, flechas).

REGION DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS

1- Células ciliadas externas

Las c.c.e. presentan imágenes en las que se observan alteraciones a todos los niveles, correspondientes tanto a la forma celular como a su contenido. La forma de las células ciliadas, aunque ocasionalmente pueda estar conservada en superficie, en otras ocasiones además de encontrarse alteraciones manifiestas de la forma de su cutícula (Fot. 99) podemos observar que el cuerpo celular posee un espesor que en zonas es visiblemente menor de lo habitual (Fot. 93). Con referencia al contenido, merece destacarse de forma muy especial la morfolo-

gia, cantidad y distribución de las cisternas de R.E. Así, se observan en ocasiones grandes dilataciones de estas estructuras que pueden mostrarse afectadas en cualquiera de sus localizaciones (Fot. 95 y 96). Aunque por lo general suelen ser grandes agrupaciones de cisternas las que se observan en estado de dilatación (Fot. 95), es posible en ocasiones encontrar imágenes de dilataciones aisladas de algunos elementos dentro de un gran conjunto de caracteres morfológicos habituales (Fot. 94). En cuanto a la cantidad y distribución de las cisternas, diremos que estos dos parámetros sufren en este grupo una profunda distorsión, ya que además de observarse un aumento de cuerpos de Hensen (Fots. 93 y 94) es posible observar también como existen células en las que se producen áreas de engrosamiento por aposición de los sistemas fenestrados, coincidiendo estas con una disminución generalizada de estos elementos en el resto de la célula (Fot. 93). De otra parte, también es posible encontrar, coincidiendo con los grandes estados de dilatación antes mencionados, la existencia de cisternas de localización anómala, no situadas ni próximas a la membrana celular ni organizadas en cuerpos circunferenciales (Fot. 96). Las mitocondrias, de morfología y número habitual, mantienen de forma constante su característica relación con las cisternas de retículo endoplásmico, sea cual sea el grado de alteración (Fots. 93, 94 y 95).

La matriz hialoplásmica, de densidad habitual, suele presentar, con diferente intensidad (nunca excesiva) zonas

claras redondeadas u ovals (Fots. 93 y 94). En ocasiones es posible observar, en áreas mas o menos alejadas del polo mundial, la presencia de un material denso, homogéneo y granular, de las mismas características del que integra la cutícula, y que se dispone en acúmulos irregularmente alargados y anárquicamente distribuidos (Fot. 94). Otro hallazgo, de localización preferentemente subcuticular, es la presencia de cuerpos densos homogéneos, con áreas de aspecto similar a la de la grasa (o sin ellas) y rodeados por membrana (Fots. 95, flecha y 96).

Las imágenes panorámicas de las áreas superficiales de la región externa presentan en esta serie un aspecto francamente patológico. El primer dato de índole general que se encontrará es la pérdida de organización existente en este área, tan fina en los animales controles. Como es sabido, las cutículas de las células ciliadas presentan una ordenación lineal regular, que alterna con las precisas formas poligonales de los polos endolinfáticos de las falanges de Deiters, de tal modo que, en condiciones normales, los dos elementos citados configuran una imagen geométrica relativamente constante. Esta alteración de la citoarquitectura es distinta no solo en cada espira (como se comentará luego) sino incluso entre áreas vecinas de una misma espira. De este modo, encontramos áreas extensas (Fot. 97) de grave alteración (incluso carencia) de las cutículas, pero en las cuales aún se conserva, en cierto modo, la regularidad de la forma celular expuesta hace un momento. Sin embargo, en los casos en las que predominan las pérdidas comple-

tas se produce un borramiento tanto de la ordenación lineal de cutículas y polos endolinfáticos de las falanges de Deiters como de la morfología propia de las cutículas valoradas por separado (Fot. 98). El grupo de animales del que nos ocupamos po-see además una peculiaridad que nunca encontramos al estudiar los efectos tóxicos de la Kanamicina, y esta es el mantenimiento, después de la deciliación, de las raíces ciliares, que de-linean perfectamente sobre las desnudas cutículas, las tres hileras que conforma la W ciliar cuando los cilios ocupan su po-sición habitual (Fot. 97, flechas).

Por supuesto, en las áreas donde se produce la distor-sión total de las cutículas nos encontramos estos restos orde-nados de los cilios, por lo que en estos casos es difícil dis-tinguir las células ciliadas (que no tienen cilios pero si mi-crovillitis) de las expansiones falángicas, que a su vez exhiben una pérdida de microvellosidades (Fot. 98, flechas). Los res-tos de raíces ciliares a los que nos estamos refiriendo, pue-den aparecer bien como pequeñas elevaciones puntiformes, cuya descripción ya hemos hecho (Fot. 97), o bien como pequeñas de-presiones en la superficie cuticular (Fot. 99, flechas), y se-ría en ambos casos la regularidad en su distribución lo que nos permitiría considerar estas formaciones como huellas de cilios desaparecidos. Pero no siempre se encuentran asociadas cutículas regulares con improntas ciliares, sino que en ocas-iones se observan los elementos mencionados asentados sobre cu-tículas de formas variables y que muestran una inusual profu-

si3n hacia el espacio endolinfático (Fot. 99). Con ello, en los que no se observa ningún vestigio de cutícula (perdidas totales) se suele encontrar un tapiz más o menos rico en microvellosidades, que cuando no es demasiado espeso permite adivinar los irregulares contornos que vienen a sustituir a la perfecta geometría de las células ciliadas (Fot. 98).

En lo que respecta a los cilios, sus alteraciones no parecen ser, con la excepción de la ausencia de los mismos, demasiado manifiestas, en el sentido de que en este caso la aparición de formas ciliares monstruosas es rara en la región externa. Si es posible observar, sin embargo, dos hechos que ya hemos comentado en capítulos anteriores, como son una discreta tendencia a la fusión ciliar y la aparición (en relación con los focos de lesión) de un material grumoso y homogéneo (Fots. 97, 99, 100 y 101). Un detalle respecto de los cilios que ha llamado nuestra atención es un cierto aspecto rígido de los cilios caídos sobre la superficie endolinfática de la región externa (Fot. 101); este hecho, junto con la aparición de vestigios de implantación de las raíces ciliares, serán comentados con mayor profundidad en la discusión.

Respecto de la distribución espiral de estas lesiones, hemos observado una pérdida de geometría superficial y de polos cuticulares completos mas intensa en las zonas más apicales del caracol, siendo las espiras intermedias el asiento principal de las perdidas ciliares con mantenimiento de vestigios de implantación y observándose menos afectadas las zonas mas basales.

les. Referentes a la afectación por hileras, parece ser la menos alterada la primera hilera, que mantiene su morfología parcialmente conservadas incluso cuando se produce una desestructuración casi total de las otras dos restantes, que, por otra parte, parecen presentar un grado de afectación prácticamente similar.

2- Células de Deiters externas

El sistema de soporte de las c.c.e. muestra una disminución aparente de organelas intracelulares, sobre todo en lo que respecta a cisternas de R.E. (Fots. 93 y 94), en relación con áreas donde las células ciliadas muestran lesiones, un aspecto deshilachado del contorno, con dilataciones intracelulares importantes (Fot. 95). También se observan en el seno del citoplasma de las células espacios de muy baja densidad electrónica de forma irregular y tamaño variable, con tendencia a la confluencia que presentan tamaño variable (Fot. 94). Los polos endolinfáticos de las falanges, de los que ya hemos hablado anteriormente al comentar la superficie de la región externa en conjunto, muestran en ocasiones, una distribución irregular e incluso carencia de microvillis (Fot. 98), diferenciaciones que, por otra parte, pueden presentar aspecto anómalo para su localización (Fots. 100 y 101).

REGION EXTERNA

La región externa presenta alteraciones de la estructura celular referidas especialmente al surco externo, epitelio

de la prominencia y corion externo. Las células del surco externo presentan una forma absolutamente irregular, con grandes excavaciones en sacabocados, y, en general, con un perfil de aspecto arrosariado y, en algunas áreas, de franca dilatación (Fot. 102). Estas imágenes se evidencian tanto a nivel superficial como en profundidad, es decir allí donde las células del surco penetran en el espesor del corion externo (Fot. 102). Por otra parte, las membranas celulares de estos elementos presentan gran número de evaginaciones filiformes hacia los espacios canaliculares antes mencionados, así como una emisión de microvellosidades especialmente importante (Fot. 102).

Como sabemos, el epitelio de la prominencia continua inmediatamente el revestimiento del espacio endolinfático en dirección hacia la estria vascular y presenta laberintos basales prominentes y caracteres citoplásmicos abigarrados, similares a los que describimos sobre esta zona en el capítulo correspondiente al grupo de animales intoxicados por Kanamicina y sacrificados a los 15 días (Grupo B) (Fots. 47 y 48).

Las células del corion externo muestran formaciones redondeadas de aspecto laminar, con áreas de densidad electromicroscópica similar a la grasa e inclusiones citoplásmicas posiblemente constituidas por esta última (Fot. 102, flechas). Estos elementos, ya han sido ilustrados en grupos anteriores y por no diferir esencialmente ni en su morfología, disposición o cantidad referimos al lector a aquellas microfotografías (Fots. 62, 86, etc.).

Finalmente, los vasos capilares que circulan a este nivel, y también los que corresponden a la membrana basilar, muestran las mismas alteraciones comentadas en el grupo anterior (Grupo E) (Fots. 83 y 93).

121

GRUPO G (GENTAMICINA 30 DIAS)

LIMBO ESPIRAL

Los complejos interdentes de este grupo muestran variable grado de alteración en cuanto a las relaciones intercelulares, apareciendo en él prácticamente todos los grados de lesión descritos anteriormente para el intersticio de estas formaciones. Los espacios intersticiales pueden presentar tres aspectos distintos, refiriéndose fundamentalmente a la persistencia o nó de las uniones intercelulares a este nivel y a las finas evaginaciones filiformes que como es sabido suelen tabicar de forma habitual los canalículos intercelulares. De este modo, podemos observar áreas intercelulares de contorno redondeado, gran tamaño y superficie totalmente lisa (Fot. 103 A) junto a otras (Fot. 103 B) que, por conservar las uniones intercelulares, poseen menor tamaño, forma redondeada y aspecto dilatado. De otra parte, y con mayor frecuencia que en grupos anteriores, se observa un contenido homogéneo y granular en el interior de estos espacios intersticiales (Fot. 104).

Otros hallazgos, como son la aparición de inclusiones intracelulares de densidad electrónica similar a la grasa, no se ilustran aquí por poseer las mismas características que en el grupo anterior (Fot. 85).

En lo que respecta al corion externo, presenta un discreto aumento de celularidad, cuyos elementos muestran un aspecto especialmente tabicado, con tendencia a la conformación de imágenes apanaladas habitualmente asociadas con un contenido homogéneo de densidad similar a la sustancia intersticial (Fot. 105).

En las células mitradas lo referido en el grupo anterior es perfectamente aplicable a los animales de éste y no se ilustran debido a esta gran similitud.

Las células del surco interno muestran, en estos animales una especial turgencia, como se demuestra no sólo por la disminución del arco de circunferencia del surco, asino además por situarse las uniones apicales características de estas células ampliamente sobrepasadas por los polos mundiales, que conforman así una especie de canalículos de fondo ciego totalmente rellenos de microvellosidades (Fot. 106).

El citoplasma de estas células presenta gran cantidad de vesículas rodeadas de membrana y de aspecto dilatado, forma redondeada u oval y distribución anárquica (Fot. 106).

REGION INTERNA

1- Células marginales y células de Deiters internas

La morfología de esta región se presenta, en general, modificada respecto a los animales controles. Las células marginales, así como las células de Deiters internas, varían en su forma de forma muy apreciable. Las últimas, que en los animales controles presentan un contorno irregular cuyos límites precisos en ocasiones es muy difícil de distinguir, aparecen ahora redondeados, con pocas interdigitaciones, produciendo una protrusión de las células marginales suprayacentes hacia el espacio endolinfático (Fot. 107). En otras ocasiones el citoplasma puede mostrarse de características morfológicas no

tan llamativas como lo antes dicho, presentando todas las irregularidades y espacios que normalmente alojan a las fibras nerviosas (Fot. 108). En ambos casos, contornos redondeados y contornos irregulares, un dato concordante es la coincidencia de una matriz hialoplásmica hiperclara referida al primer caso (Fot. 107) y una matriz de densidad media habitual para aquellas otras formas que mantienen un contorno más o menos irregular (Fot. 108). Otros detalles significativos, que concommitan con los dos hechos anteriormente apuntados, matriz hiperclara y aspecto abultado, es la distribución difusa de cisternas de retículo y de mitocondrias, elementos que por otra parte suelen presentar un contorno más o menos arrosariado y sinusoides (Fot. 107).

En relación con esto, las células marginales poseen una forma, preferentemente a nivel superficial, muy ensanchada, ya que como es sabido en los animales controles la prolongación que cabalga sobre el área de las células de Deiters, para ir a fijarse en el polo endolinfático de estas células posee un espesor extremadamente fino (Fot. 107). Junto con ello, las características de su hialoplasma, así como de las organelas que este contiene, son prácticamente similares con las que describimos en el párrafo anterior para las células de Deiters internas, observándose cisternas de retículo de contorno arrosariado y, de forma esporádica y sorprendente, algunas otras redondeadas y de aspecto dilatado (Fot. 107).

En lo que respecto al plexo interno, se encuentra, por lo general, alterado en cuanto a su disposición por la modificación de la forma de las células de Deiters, pero no en cuanto a su morfología, con la excepción del hallazgo ocasional de estructuras de aspecto fibrilar con contornos deshilachados y áreas concéntricas hiperclaras y densas (Fot. 108). En otras ocasiones, y también de forma fotruita, puede observarse la aparición de lisosomas secundarios (Fot. 108).

2- Células ciliadas internas

Estos elementos presentan alteraciones tanto en lo que se refiere al área superficial (endolinfática) como en lo que respecta a la composición y a la densidad de sus organelas. La matriz hialoplásmica, normalmente de densidad habitual, presenta cisternas de R.E. muy abundante, que en ocasiones pueden mostrar contornos redondeados o facetados (Fot. 109). De otra parte, es un hecho muy llamativo la extraordinaria abundancia de agrupaciones cisternales de aparato de Golgi, que, a veces, pueden presentar dilataciones parciales o totales (Fot. 109). Quizá por el aumento de las restantes organelas, o quizá por la existencia de una franca disminución de microtúbulos, el hecho es que la observación del área citoplásmica de las c.c.e. no ofrece al observador la misma impresión que en los animales controles, en los que estas estructuras se muestran de forma muy llamativa.

El área cuticular de estas células presenta hechos de gran interés como es la existencia de pérdidas ciliares abun-

dantes (Fot. 111), con intensidad y patrón similar a los descritos en el grupo anterior; sin embargo, parece particularmente evidente en este grupo de animales la aparición, en el área inmediatamente cubcuticular, de cuerpos rodeados por membrana, y de contenido de densidad variable y de disposición y proporción irregular (Fot. 110).

PILARES

El estudio de los arcos de Corti revela la aparición, a todos los niveles del caracol de una morfología dispar con los animales controles. Se observan alteraciones discretas de la forma celular, evidenciables por un relativo aumento de las irregularidades de membrana (evaginaciones e invaginaciones), preferentemente a nivel de la articulación capital (Fots. 113 y 114, flechas) no obstante, la forma en conjunto de estos componentes se mantiene bien conservada. La matriz citoplásmica, de densidad electrónica habitual, aloja organelas y estructuras de apariencia y volumen diferente a la que observamos en animales controles. De este modo, es frecuente observar una disminución relativa de mitocondrias, así como espacios de contorno irregular y gran magnitud rodeados por membrana celular y, en ocasiones, observados en relación con cisternas de R.E. (Fots. 113 y 114). Estos últimos elementos pueden encontrarse en localizaciones tan inusuales como el cuerpo vitreo de Held (Fot. 112), el espesor del eje microtubular del tallo (Fot. 113) o la condensación capital (Fot. 114), lo que parece sugerir

la existencia de un aumento relativo de este componente celular, que, por otra parte, y como es sabido, está ppbremente representado en los animales normales.

El sistema de microtúbulos-microfilamentos y sus áreas de apoyo (esencialmente la condensación de la articulación capital) presentan profundas diferencias con respecto a los grupos testigos. Se aprecia una evidente disminución del sistema microtubular, así como un trayecto en ocasiones flexuoso de estos componentes, que, llamativamente, llegan en muy poco número a la condensación capital (Fots. 113 y 114). Este último elemento presenta una disposición y morfología que dan un aspecto sumamente irregular a este área. De este hecho, los contornos perfectamente regulares, redondeados, de esta condensación, que por otro lado se sitúa íntimamente apuestos al complejo de unión a este nivel, se muestra en este caso, con un límite irregular y tortuoso, y se dispone en zonas que pueden incluso situarse inmediatamente subyacentes a la membrana bañada por la endolinfa y en todo caso en contacto con el dispositivo funcional antes mencionado. Respecto de la morfología última de este componente que en condiciones normales conocemos que es un todo compacto, homogéneo, denso y granular, posee en los animales de este grupo, coincidiendo con su forma irregular y localización atípica un aspecto aparentemente homogéneo pero con irregulares áreas de condensación ofreciendo un aspecto parecido a la cromatina, de otra parte, es posible observar la existencia en su seno de cuerpos densos rodeados de

membrana, microtúbulos y otras organelas (Fot. 114).

REGION DE LAS CELULAS CILIADAS EXTERNAS

1- Células ciliadas externas

La región de las c.c.e. presenta gran número de datos de interés morfológico para el estudio de toxicidad inducida por Gentamicina. Conviene destacar de esta serie dos hechos principales, como son la observación, por primera vez, de imágenes anómalas a nivel de 1E y el hallazgo de imágenes sugerentes de profunda alteración en niveles altos de la coclea.

El estudio de la espira basal. revela el hallazgo fundamental de dilataciones segmentarias de la membrana celular, organizandose bajo ellas unas zonas hiperclaras de contorno redondeado u oval que dan aspecto ampolloso a estas estructuras (Fot. 115). Por otra parte, es muy sugerente, como dato morfológico, la presencia de cisternas de R.E. en el seno de la matriz hialoplásmica con mayor profusión de lo habitual (Fot. 115). Estas imágenes, de relativo parecido con lo observado en los animales controles, contrastan profundamente con observaciones realizadas en los niveles más altos del caracol, ya que en estos puntos es posible observar células ciliadas de matriz hiperclara, y que presentan extensas áreas carentes de organelas, cuerpos mitocondriales de matriz muy densa y crestas claras y dilatadas, así como restos de cisternas de R.E. de aspecto vacuolar (Fots. 116 y 117). La cutícula, en estos casos, suele estar profundamente alterada, y no es raro que se encuen

tre reducida (Fot. 116) a una pequeña área, de electrodensidad disminuida, que contiene las raíces de implantación de los cilios .

Las imágenes en superficie de este área ofrecen un aspecto de completa desolación, observándose gran número de cutículas desnudas, aunque en algunas se evidencian restos de implantes ciliares (Fot. 118). Otros datos significativos son la pérdida de la regularidad y geometría de este área y la aparición de microvillis en la superficie cuticular (Fot. 118), que coinciden en su distribución con la mencionada en el grupo anterior, siendo quizás el único aspecto mas particular de esta serie el de observar imágenes de fusión ciliar (Fot. 119, flechas) con aparición de unidades ciliares de gran tamaño.

2- Células de Deiters externas

El sistema de soporte de la región externa muestra profundas alteraciones, preferentemente localizadas en la tercera espira y en el vértice, observándose en todas ellas un llamativo aumento de organelas correspondiente a las cisternas de R.E. y a las mitocondrias (Fot. 120); las cisternas de R.E. pueden mostrarse dilatadas y con claros fenómenos de telescopaje (Fot. 116).

REGION EXTERNA

Las células de Hensen presentan, como dato llamativo, la aparición, muy frecuente, de imágenes de apertura de sus enclaves lipídicos intracelulares hacia el espacio endolinfá-

tico (Fot. 121), mostrando por otra parte, la existencia de cuerpos de densidad semejante a la de los lípidos (pero envueltos por membrana) así como cisternas de R.E. en variable estado de dilatación (Fot. 121).

Las células de *Claudius* presentan algunos aspectos relevantes que no se encuentran en los animales testigos. De este modo, junto con una cierta mayor irregularidad y tendencia a la interdigitación de las células, se observa la presencia de cuerpos multimembranosos y áreas de densidad electrónica media o baja, similares a las que describimos en capítulos anteriores para la región externa (Fot. 122, flecha). Otros detalles de interés son la presencia de espacios vacíos, de aspecto dilatado, recubiertos por membrana, y, como otros detalles citoplásmicos de interés, la existencia en estas células de un aparato de Golgi relevante y la presencia de algún que otro cuerpo de aspecto lisosomal (Fot. 122).

Referente al compartimento externo en conjunto, presentan imágenes que, cualitativamente, son en todo superponibles a las del grupo anterior, si bien aparecen siempre con mayor intensidad que en aquellos. Así, el hallazgo de cuerpos de densidad electrónica media, o de formaciones lamelares como la mencionada hace un momento, aparecen con relativa profusión en las células del corion externo (Fot. 123, flechas), siendo un dato de interés la presencia de detritus sugestivos de la existencia de un fenómeno de destrucción celular (Fot. 124).

Las estructuras vasculares de esta región corresponden a endotelios con abundantes microvacuolas claras y de un caracter que, por haber sido ya comentados en grupos anteriores no los ilustramos ni los mencionaremos aqui.

OTRAS ESTRUCTURAS

La membrana de Reissner aparece por primera vez en esta serie de Gentamicina con alteraciones evidentes (Fot. 125). Estas aparecen tanto a nivel de la cara perilinfática como de la endolinfática, y básicamente presentan el mismo aspecto. En primer lugar, existe mayor cantidad de R.E.L. de lo habitual (Fot. 125), siendo frecuente encontrar grandes vesícula electromicroscopicamente vacias rodeadas de membrana, que expresan una alteración del sistema vacuolar. Se observan también algunas imágenes lamelares e inclusiones de aspecto lipídico fundamentalmente a nivel de la cara endolinfática.

La membrana basilar presenta estructuras vasculares con gran cantidad de vesículas de micropinocitosis, ya citadas en otros grupos y que por lo mismo no seran descritas de nuevo.

156

DISCUSSION
=====

129

SISTEMATIZACION DE LAS LESIONES

En los párrafos precedentes hemos comentado ampliamente los hallazgos más importantes y significativos de nuestra experiencia, tratando por separado cada grupo de animales. Es preciso ahora, para poder comentar y discutir estos hallazgos, ordenarlos de forma coherente y sistematizar las lesiones. Debido a la similitud que existe entre ambos antibióticos y a la correlación entre los distintos grupos experimentales, resumiremos conjuntamente los datos de las series intoxicadas con Kanamicina y Gentamicina.

Es evidente, como hemos podido observar en los resultados, que cada porción del órgano de Corti reacciona de forma distinta a los antibióticos aminoglucosidos empleados, y así, las células interdenciales, en un primer estadio de lesión (en los animales tratados con Kanamicina y sacrificados a los 7 días del comienzo del experimento), presentan un aumento general del sistema vacuolar citoplásmico (Fots. 1, 3 y 4), que posteriormente regresa (Fots. 28, 29, 56, 57, 70, 83, 84 y 103), mos-

trando entonces las células unas características citoplásmicas que no difieren en mucho de las observadas en animales con troles. Este fenómeno, que se puede considerar como una reacción inespecífica del tóxico a este nivel, aparece en todas las espiras de la coclea, de la basal al vértice, y en todas las células interdenciales, tanto en las que se sitúan en la región más interna (Fots. 1 y 3), como en las que se sitúan en la par te más externa del limbo, en íntimo contacto con las células del surco interno (células mitradas) (Fot. 4). La regresión o desaparición del aumento de R.E. y aparato de Golgi se observó en todos los animales de los demás grupos experimentales (incluyendo los de Gentamicina) excepto en un animal en un estadio un poco posterior a los primeros (sacrificio a los 15 días), en el que el aumento de sistema vacuolar era tan manifiesto como el descrito anteriormente.

Además de este hecho, ya comentado, las células interdenciales presentan una característica importante, que re ve re m os mas extensamente luego, que es la dilatación de los canales intercelulares dentro de cada complejo (Fots. 1,3,28,56, 70,83 y 103). Este fenómeno que aparece en todos los animales estudiados, es más manifiesto en los animales con un grado mayor de intoxicación, y, por otra parte, este aumento de espacio intercelular no presenta una distribución espacial típica (como en otros tipos de lesión), sino que aparece a todos los niveles de la coclea.

Otro fenómeno que, por ser constante en estas células, no podemos dejar de recordar, es la presencia de inclusiones lipídicas (Fots. 2,29,57 y 84), tanto en las porciones basales (Fots. 2,29 y 57) como en las mas apicales (Fot.57), i.e., en las prolongaciones superficiales que tapizan completamente la superficie endolinfática, asi como en las células mitradas (Fots. 4 y 84).

El armazón del limbo espiral (corion interno) reacciona de forma similar en todos los animales a partir de los 15 dias del comienzo del tratamiento con Kanamicina y a partir de los 7 dias del inicio de las inyecciones con Gentamicina. Es manifiesto el incremento de la población celular (Fots.30, 71,83 y 105), con mayor número de prolongaciones citoplásmicas que se enrollan sobre si mismas y que en algunas ocasiones muestran un material entre ellas (Fots. 83 y 105); otras veces estas células aparecen cargadas de telolisosomas, en cuyo interior existen residuos de sustancia en vias de degradación. Por otra parte, no es raro la presencia de detritus celulares drenandose en las áreas perivasculares (Fots. 32 y 58).

Las células del surco interno reaccionan igual que las células interdentes en los primeros estadios de lesión. El aumento de sistema vacuolar citoplásmico es norma (Fots.5 y 6) en los animales tratados con Kanamicina, mientras que en el caso de la Gentamicina no se encuentra en las primeras etapas, en las que aparecen completamente normales, aunque posteriormente presentan la misma alteración (Fot. 106); sin embar-

go, el aumento y dilatación del R.E. no es tan manifiesto como en el caso de la Kanamicina. Este fenómeno, por otra parte inespecífico, es común a todas las espiras de la coclea, siendo quizás algo mas abundante en la espira apical del caracol.

Las células marginales, en general, presentan pocas alteraciones a lo largo de todo el estudio. Inicialmente alteran su sistema vacuolar (Fot. 106), pero no de forma tan llamativa como aparece en las células interdentes y células del surco interno, y, posteriormente, solo presentan algún que otro lisosoma (Fots. 33 y 72) en la zona apical.

Las células sensoriales son los elementos más significativos del órgano de Corti y a ellas corresponden las lesiones mas importantes (y en este caso mas llamativas) de todas las encontradas en el aparato auditivo. Tanto las c.c.i. como las c.c.e., aparecen lesionadas en mayor o menor grado desde los primeros momentos, y así la disminución de la densidad de la cutícula, con la consiguiente pérdida de rigidez ciliar, y abombamiento e irregularidad de su superficie endolinfática (Fots. 8 y 9), son las primeras alteraciones observadas en las c.c.i. Posteriormente estos hechos se hacen más evidentes (Fots. 34, 35, 59, 60, 73, 74, 87, 88, 89, 90, 110 y 111), a la vez que aparecen nuevos fenómenos. Por regla general, en un segundo estadio, y coincidiendo con alteraciones cuticulares y ciliares manifiestas, aparecen lisosomas (Fots. 33 y 34), que son mas abundantes en los últimos estadios de lesión (Fots. 1 y 2). Los cilios no solo pierden su rigidez, cayendo sobre

la superficie endolinfática, sino que también pierden sus características morfológicas ultraestructurales, tanto en lo que respecta a la forma (Fots. 59,73,90 y 111) como al número, notablemente disminuido (Fots. 76, 90 y 111). Estas alteraciones evolucionan y progresan a lo largo del tiempo, siendo más leves las observadas en el primer grupo de Kanamicina (a los 7 días del comienzo del experimento). En relación con la Gentamicina, las lesiones observadas en los primeros momentos son de mayor intensidad que las inducidas en igual período por la Kanamicina, pero se superponen con las observadas posteriormente (a los 15 días). Con respecto a la distribución topográfica, no ocurre lo que en las células interdentes y células del surco, sino que en un principio aparecen exclusivamente en las espiras apicales, para posteriormente ir progresando hacia la espira basal, siendo siempre las lesiones más manifiestas a nivel del vértice; de hecho no hemos encontrado nunca lesión en la basal, ni siquiera en los estadios más avanzados.

Las alteraciones de las c.c.e. consisten en alteraciones del sistema vacuolar (Fots. 13,17,62,76,95,96 y 117), dependiendo del animal y de la espira analizada. Esta alteración es la primera que ocurre a este nivel; primeramente aparece en espiras apicales en los animales menos intoxicados (Fot.13) y con menor grado de lesión a este nivel, y en espiras mas inferiores (fundamentalmente 2E) en animales con mayor tiempo de evolución (Fots. 62,95 y 117); por otro lado, en estos estadios de lesión, las alteraciones ciliares y cuticulares

todavía no han aparecido. Esta alteración del sistema vacuolar se manifiesta por aumento y dilatación del R.E.L. en algunos casos (Fots. 13,96 y 117), mientras que en otros lo que se observa es un aumento irregular de las membranas fenestradas (Fots. 16,37,93 y 117), con aumento en el número de cuerpos de Hensen (Fots. 14,16,17,37,38,83 y 115) ya sea en formación o completamente constituidos; el aparato de Golgi también aparece aumentado en número (Fots. 13,95,96 y 115), fundamentalmente en aquellas circunstancias en las que el R.E. presenta la morfología que hemos referido anteriormente. También son manifiestas e importantes las irregularidades de la cutícula (Fots. 12,15,37,38,41,94,98,99 y 118), mucho mas llamativas al final del experimento. La cutícula se hace irregular en su forma, y además se produce una disminución de su densidad (Fots. 14,15,37,39 y 116) ,con aparición de material cuticular a otros niveles (Fots. 2,16,37,76,94 y 116) de las células sensoriales, como en la parte media y tercio basal, y sobre todo en el tercio inferior. Concomitantemente con este fenómeno aparecen lisosomas secundarios en la zona subcuticular (Fots. 15,37,38,94,96 y 116), mas abundantes en aquellas áreas en las que la cutícula está mas desestructurada, y coincidiendo generalmente con aquellas células que se encuentran en un estadio posterior a la alteración del sistema vacuolar citoplásmico.

Por otra parte, los cilios pierden su rigidez característica y caen sobre la superficie endolinfática (Fots.19,20,

40,41,42,63,64,65,77,97,98,99,100,118 y 119), mientras que en otras ocasiones se funden con los cilios vecinos formando masas mas o menos irregulares sobre la cutícula (Fots. 41,68 y 78) o sobre la membrana cuticular (Fots.78 y 97); es frecuente que desaparezca el patrón típico en W, llegando incluso a aparecer penachos irregulares de cilios de mayor tamaño de lo habitual, que, generalmente, han perdido su erección característica. En otras ocasiones, las c.c.e. aparecen sin cilios aunque todavía se reconoce la naturaleza de las mismas por presentar su superficie cuticular con restos de pequeñas excrecencias que dibujan una W, habiéndose producido una pérdida de cilios que, por otra parte, presentan una implantación normal, como lo demuestran los restos de las raíces ciliares (Fot.97). Los penachos ciliares que aún se conservan en estas áreas, aparte de haber perdido su forma y disposición, aparecen disminuidos en número (Fots. 20,40,41,64,78,97,98,99,100 y 119).

En los animales con mayor grado de lesión no se reconocen las c.c.e. en una visión de superficie, ya que no muestran ni cutícula, ni cilios, ni límites celulares definidos (Fots. 40,98 y 118), no siendo raro encontrar protrusiones citoplásmicas hacia el conducto endolinfático (Fots.38 y 99) y cilios de tamaño gigante (Fots. 41 y 119). Todas estas lesiones se pueden interpretar como un proceso continuo, siendo evidente que las alteraciones mas manifiestas aparecen en los animales en los que la exposición al antibiótico ha sido mas prolongada. Sin embargo hay que tener en cuenta que la

lesión es segmentaria, de tal forma que al lado de células francamente dañadas, con pérdida, incluso, de penachos ciliares completos, aparecen células que conservan aparentemente su estructura (Fots. 40, 64, 78, 98 y 99). La MEB es especialmente útil en la valoración semicuantitativa de estas lesiones, tarea que con el empleo exclusivo de la MET ha conducido a un extraordinario grado de confusión (v.i.). La lesión de las c. c.e. es evidente que es progresiva, aunque sea segmentaria, existiendo un hecho de gran interés que radica en la distribución espiral. Las primeras alteraciones encontradas en todos los casos aparecían en el vertice y posteriormente en espiras mas inferiores. Estas lesiones siempre eran mas intensas en V, apareciendo en 2E y 3E lesiones que en el grupo anterior, correspondiente a un estadio lesional inferior, se encontraban a nivel de V. Estos fenómenos nos explican, en parte, las distintas observaciones discrepantes de otros autores que posteriormente comentaremos. En ningún caso, incluyendo en el antibiótico más tóxico (Gentamicina), aparecen alteraciones importantes y constantes en la espira basal, en los últimos estadios lesionales.

Las células de soporte también reaccionan al fármaco, evidenciándose claramente una secuencia lesional. Por un lado las células de los pilares (ya sean internas o externas) alteran su sistema vacuolar y de microtúbulos (Fots. 11, 61, 91, 93, 112, 113 y 114), encontrándose en algunas ocasiones lisosomas y mitocondrias mas o menos degeneradas (Fots. 61 y 91). Suelen

aparecer, al igual que las alteraciones de las células sensoriales, en V, y, en algunas ocasiones en 3E y 2E en aquellos animales en los que las células sensoriales se encontraban francamente afectadas. Por otro lado, las células de Deiters (fundamentalmente las células de Deiters externas) presentan fenómenos dignos de tener en cuenta en los primeros grupos (tanto de un antibiótico como de otro). El aumento y dilatación del R.E. es norma (Fots. 12,16,17,22,44 y 76), siendo mas manifiesto en los animales tratados con Kanamicina, en los que las restantes lesiones se pueden considerar menos llamativas y extensas que en el caso de la Gentamicina. Este fenómeno aparece tanto en los cuerpos de las células de Deiters como en sus prolongaciones falángicas, siendo quizás mas llamativo en estas últimas. No se han observado células de soporte alteradas en aquellas áreas en las que las c.c.e. estaban conservadas, presentandose estas , solo en los sitios en los que las ciliadas se encuentran afectadas (v.s.).

Además, y sin coincidencia con las áreas en las que el sistema vacuolar está afectado, aparecen células de Deiters de densidad electrónica aumentada (Fots. 21,37,43,66 y 79) , tanto que en algunas ocasiones (fundamentalmente en los estadios más avanzados) serian irreconocibles de no ser por su situación o por la presencia de algunos microtúbulos aislados y con restos o detritus celulares (Fots. 37 y 66); en otros casos, aunque efectivamente su densidad es mayor, se reconocen completamente sus estructuras (núcleo, mitocondrias, micro

túbulos) y, hecho importante, como posteriormente veremos, siguen unidas por uniones comunicantes con las estructuras vecinas (Fots. 43 y 79).

La superficie de las células falángicas, que conforma la membrana reticular, muestra cambios que se encuentran en íntima relación con los cambios superficiales, ciliares y cuticulares, de las células sensoriales. En primer lugar aparece un aumento de microvillis en aquellos lugares en los que existe una disminución del número de cilios (Fots. 19, 40, 41 y 64), cubriendo aquellos toda la superficie endolinfática de las c.c.e. en los estadios en los que han desaparecido dichos elementos (Fots. 40, 64, 78 y 98). Además de aumentar en número (fenómeno que aparece progresivamente según el estado de lesión ciliar), alternan su forma haciéndose mas grandes y globulosas (Fots. 41, 75, 90, 98, 99 y 101) hecho este último, que aparece en ambas células de Deiters (internas y externas).

Las células de Hensen muestran cambios morfológicos tales como un aumento del contenido graso y de su expulsión a la endolinfa (Fots. 45, 46 y 121), fundamentalmente en estados avanzados de lesión, habiéndose encontrado además una alteración del sistema vacuolar en el último estadio de los animales tratados con Gentamicina (Fots. 120 y 121). Las células de Claudius generalmente permanecen sin lesión hasta los últimos estadios, en los que aumenta considerablemente el R.E. y aparato de Golgi (Fot. 122) con la presencia de algún lisosoma ocasional y uniones de 7 capas preservadas.

Con respecto a la región más externa del caracol membrano, el corion externo, presenta las mismas alteraciones en todos los animales y a todos los niveles de la coclea. Estos consisten en la formación de mas cuerpos de estructuras filamentosas y concéntricas (Fots. 23,42 det., 49,67,80,102 y 123) de aspecto más o menos lipídico, mas abundantes en los animales con mas tiempo de evolución de sus lesiones (Fot.123). Además de este fenómeno, en algunos casos se aprecia un aumento y dilatación del R.E. (Fots. 23,49 y 50) en los primeros estadios, aunque nunca tan manifiestos como en el caso de otras estructuras del órgano de Corti.

Las células del surco externo ("peg cells") no alteran su sistema vacuolar, pero sus canales aparecen dilatados (Fots. 48 y 102) y en los estadios últimos algunos se reducen a restos necróticos (Fot. 124). Las células que se continúan directamente con ellas (células de la prominencia espiral) emiten prolongaciones por encima de la membrana basal, dejando unos canales mayores de lo habitual (Fots. 47, 47 dte. A), fenómeno mas evidente en espiras superiores y en distintos momentos de intoxicación. Por otra parte, la estria vascular, curiosamente, no altera su morfología, presentando unicamente cuerpos esferoideos semejantes a los descritos para el corion externo (Fots. 51 y 52) que aparecen tanto en la capa superficial como en la capa profunda de esta estructura.

Con respecto a las membranas del receptor auditivo, la tectoria muestra múltiples orificios (Fot. 24) de tamaño y número mayor de lo normal en su porción libre; el segmento límbico suele contener masas densas, que se rodean generalmente de cuerpos oscuros de carácter lisosómico (Fot. 25) y que permanecen durante todo el proceso de intoxicación y a todos los niveles, siendo mas llamativas en 3E y 4E. También la membrana de Reissner muestra alteraciones evidentes, consistentes en dilatación y aumento de los canales intercelulares, tanto en las células de revestimiento endolinfático como perilinfático (Fot. 26), con aparición de múltiples vesículas y vacuolas, tanto de R.E. como de pinocitosis (Fots. 26, 55 y 125) y con alteración general del sistema vacuolar en ambos tipos celulares (células epiteliales y mesoteliales). La presencia de cuerpos de aspecto lipídico (Fots. 26 y 55) constituyeron norma en los animales tratados con Kanamicina tanto en los primeros momentos (Fot. 26) como en períodos en los que la lesión general del órgano de Corti era manifiesta (Fots. 55). La membrana basilar, aparte de las alteraciones vasculares que a continuación comentaremos, muestra un aumento del R.E. y de formaciones endocitóticas (Fots. 54 y 68) en la capa de células de revestimiento timpánico.

Todas las estructuras vasculares, y en especial las de la membrana basilar y corion externo, presentan un aumento manifiesto de vesículas de micropinocitosis (Fots. 27, 50, 53, 69, 82 y 86). Por otra parte no es raro encontrar dehiscen-

cias y aumento de separación entre células endoteliales entre si, entre las células endoteliales y la membrana basal y entre ésta y las prolongaciones celulares del corion que la abrazan (Fots. 81 y 102), fenómeno observado exclusivamente en los animales tratados con Gentamicina. Además, generalmente, las células endoteliales muestran prolongaciones filiformes de su citoplasma hacia la luz vascular (Fots. 53,69 y 82) semejantes a las descritas en la destrucción de la barrera hematoencefálica (Gonsetle, 1972).

DISCUSION DE LOS HALLAZGOS MORFOLOGICOS

Los hallazgos hasta aquí sistematizados son en cierta forma coincidentes con los de otros autores (Voldrich, 1965; Wersall et al., 1973; Ylikoski, 1974; Theopold, 1977; Bagger-Sjoback, 1976, etc.), singularmente en lo que se refiere a las células sensoriales. Sin embargo, las alteraciones de los restantes componentes de la rampa media han sido escasamente estudiadas; así, antes de entrar en el análisis de la patología de la toxicidad, parece obligado contrastar nuestros datos con los de otros autores, operación quizá tediosa pero desde luego imprescindible.

En lo que respecta a la región del limbo espiral (células interdentes, corion interno y células del surco interno), Ostyn y Tyberghein (1968) en un estudio con M.O. de la influencia de varios antibióticos del mismo grupo (Kanamicina, Estreptomicina, Viomicina, Capreomicina y Neomicina), encuentran una desaparición de los núcleos de las células del

limbo en aquellos casos en los que el órgano de Corti estaba gravemente afectado; aparte de esta aportación, no hemos encontrado ningun trabajo que comente esta estructura bajo alguna influencia patológica, hecho por otra parte comprensible cuando se observa que desde el punto de vista de la histología normal solo ha sido estudiada recientemente (Merchan et al., 1980).

Este problema es aun mas manifiesto en el caso de las células marginales, que aunque se ilustran en escasas ocasiones (por encontrarse en relación con las c.c.i.) no son comentadas en ninguna de ellas.

Por otro lado, las células de soporte, entre las que se incluyen las células de Deiters y células de los pilares, son objeto de mayor grado de polémica en cuanto a su lesión. Existen autores (Ostyn y Tyberghein, 1968; Brummett et al., 1972; Ylikoski, 1974) que afirman que estas estructuras no se lesionan hasta estadios muy avanzados de degeneración, mientras que otros, por el contrario, afirman lo opuesto (Hawkins y Johnson, 1968; Reddy e Igarashy, 1962) e incluso que muestran alteraciones antes de que aparezcan a nivel de las células sensoriales. Las alteraciones descritas a este nivel, consisten en lagunas intracitoplasmáticas (Darrouzet y Guilhaume, 1974), hinchazón de las mismas (Hawkins et al., 1969) y aumento en el número y grosor de microvillis (Bredger et al., 1973). Nosotros hemos observado fenómenos superponibles, como aumento y dilatación de R.É. (con el consiguiente aumento de grosor de

las células en algunos puntos) y alteración de la disposición, tamaño y número de los microvillis que conforman la membrana reticular. Hemos de señalar también, que la mayoría de los autores (Brummett et al., 1972; Ylikoski, 1974; Hawkins y Johnson, 1968, etc.), hablan exclusivamente de degeneración de las células de soporte, sin describir el tipo de lesión, ni la interpretación de las mismas, aunque si cobra importancia el tiempo de aparición de las anomalías, fundamentalmente en lo que respecta a su relación con las células sensoriales.

Las células de Hensen y Claudius no son siquiera consideradas por los distintos autores, y zonas como el ligamento espiral o el surco interno solo cobran importancia para Hawkins y Johnson (1968) y para Hawkins (1973), quienes las consideran, respectivamente, como los lugares de afectación inicial.

La estria vascular, como estructura encargada del mantenimiento de la concentración iónica de la endolinfa, es importante a la hora de valorar las posibles manifestaciones (e interpretaciones) de las alteraciones morfológicas a este nivel. Ostyn y Tyberghein (1968), utilizando dosis de 100 y 200 mgr. de Kanamicina/Kgr. de peso durante 30 días, y analizando las muestras con M.O., encuentran severas alteraciones a nivel de las células cromófilas intermedias de la EV, consistentes primeramente en aumento de su densidad citoplásmica, con disminución posterior del número de estas células. Por otra parte, Lim (1976), con dosis muy superiores a las utili-

zadas por Ostyn y Tyberghein (400 mgr/Kg./dia), e incluso en animales a los que se les dejaba sobrevivir dos o tres meses después de perder el reflejo de Preyer, solo encuentran(con M.E.) ligera hinchazón en las células intermedias de la estria vascular y de las células del ligamento espiral, siempre en aquellos casos en los que las alteraciones morfológicas de las células ciliadas eran manifiestos. Voldrich (1965) observa una atrofia hasta de un cuarto del espesor normal en animales tratados con distintos antibióticos aminoglucósidos.

La interpretación en todos los casos es confusa. Hawkins (1973) piensa que las alteraciones de la EV son secundarias a la alteración de los capilares sanguíneos a este nivel, siendo la alteración de los mecanismos microhomeostáticos especiales que gobiernan el volumen, formación y composición iónica del fluido del oído interno el factor común de alteración morfológica en el órgano de la audición. Autores como Bohne, Ward y Fernandez (1976) piensan que la patología de la estria no se relaciona con los patrones de degeneración de las células sensoriales, y Lawrence (1966,b) demostró que, tras la oclusión selectiva del riego sanguíneo de la EV, la estructura del órgano de Corti permanecía intacta aun cuando la EV hubiese degenerado. Por nuestra parte, no hemos encontrado al teraciones evidentes a nivel de las células de la EV propiamente dicha. La presencia de algunas formaciones redondeadas, de aspecto lipídico, en algunos casos (Fots. 23, 47, Det., 49, 67, 80, 102 y 123) es la única manifestación morfológica valo-

rable en todas las muestras examinadas.

En lo que respecta al límite superior de la rama cóclear, es decir, de la membrana de Reissner, juega un papel importante en el mantenimiento de la concentración iónica de la endolinfa (Rauch et al., 1963; Chou, 1963; Lawrence, 1964; Krochmalska, 1966; Merchan, 1979), siendo por tanto una estructura interesante a la hora de valorar e interpretar las manifestaciones morfológicas que presentan bajo la acción de determinadas drogas ototóxicas.

Kaneko, Nakagawa y Tanaka (1970) realizan un estudio de las alteraciones histológicas e histoquímicas que presentan esta membrana bajo la acción de la kanamicina. Con una dosis superior a la nuestra (400 mgr/Kg./dia, durante 15 días), los resultados de estos autores consisten en un aumento de actividad fosfatasa-ácida, así como grandes vacuolas intracito-plásmicas, gránulos de baja densidad electrónica, aparato de Golgi manifiesto, aumento del R.E., de lisosomas y de vesículas de micropinocitosis; estos hechos los llevan a pensar que la membrana de Reissner pudiera perder su capacidad para mantener la composición química normal de la perilinfa y endolinfa. Nosotros, por nuestra parte, hemos encontrado resultados semejantes a los de este autor y de otros, como Santi y Duvall (1979) y Hunter-Duvar (1978), aunque el mecanismo de acción de los tóxicos a éste (u otros) niveles de la cóclea no está dilucidado.

Sin embargo, y con independencia del mecanismo lesional, las alteraciones morfológicas de la membrana de Reissner son importantes en las lesiones observadas a otros niveles; así, por ejemplo, Duvall (1968) y Lawrence (1969, a) observan atrofia de la E.V. y destrucción de las células sensoriales tras la rotura mecánica de la membrana de Reissner, hecho que sugiere la necesidad de la integridad de la membrana para el mantenimiento de la estructura normal de determinadas áreas del caracol membranoso. Por otra parte Nakahima, Watana ke y Oda (1969) y Stupp, Rauch, Sous, Brun y Lagler (1967) estudian la concentración del antibiótico (Kanamicina) en ambos fluidos laberínticos. El primero encuentra un aumento de Kanamicina en la perilinfa (no en la endolinfa) en animales sacrificados en un corto periodo de tiempo que oscilaba de 1 a 4 horas; por su parte, Stupp, obtiene un aumento considerable de la concentración de la droga en perilinfa en animales tratados durante 10-15 días consecutivos. Este fenómeno parece que está favorecido por el efecto del sello que la membrana de Reissner realiza a este nivel. El aumento de antibiótico en la escala vestibular, probablemente daña la membrana, produciéndose además un aumento de la permeabilidad como ha sido sugerido por Misrahy, Spradley, Dzinovic y Brooks (1961). Estos hechos comentados anteriormente nos hacen pensar, que, además de la acción directa del antibiótico sobre las estructuras del órgano de Corti, y en especial, de las células sensoriales, hemos de considerar la integridad de la membrana de

Reissner, y que, por lo menos en parte, las drogas llegan a la endolinfa a través de esta vía, pudiendo afectar directamente a la superficie endolinfática del órgano auditivo.

Que duda cabe que las células sensoriales son los elementos más importantes del órgano de Corti, además de ser los que más se lesionan en cuanto a intensidad y variabilidad se refiere. Hallazgos semejantes, por lo menos en algunos puntos, han sido observados por otros autores, y así, por ejemplo, Wersall, Bjorkroth, Flock y Lundquist (1973) en animales tratados con dosis superiores a las nuestras de sulfato de Gentamicina (100 - 175 mgr/Kg./dia) por vía subcutánea, encuentran cuerpos densos subcuticulares (que interpretan como mitocondrias degeneradas), disminución de la densidad electrónica del citoplasma (por disminución del número de ribosomas) aumento progresivo de la superficie con fusiones ciliares que conducen a la aparición de cilios gigantes, y, en etapas avanzadas de degeneración, edema nuclear, picnosis y destrucción de la membrana plasmática; como hecho último descrito por Wersall tenemos la desaparición ciliar y protrusiones celulares. Sin embargo solo interpretan la disminución de ribosomas y alteraciones nucleares (como posible mecanismo de acción del antibiótico sobre el RNA) y la fusión ciliar, producto de la alteración de los mucopolisacáridos que recubren los cilios, y/o, en última instancia, por alteración de la membrana plasmática.

Kohonen (1965), con dosis algo superiores (400 mgr/Kg./dia, durante 7 días) de sulfato de Kanamicina, encuentra, co-

mo lesiones iniciales, una desaparición de la W ciliar, con caída de los cilios sobre la superficie de las c.c.e. y alteraciones nucleares a nivel de las células sensoriales. El hecho de encontrar como primer dato patológico alteraciones a nivel nuclear le hace pensar que los antibióticos aminoglucosicos actúan primariamente a nivel de la síntesis de proteínas.

Bredberg, Ades y Engstrom (1973) y Voldrich (1965) además de los datos morfológicos apuntados, observan aumento de cuerpos de Hensen a nivel de las c.c.e. y Darrouzet y Guilhaume (1974) en un estudio "dia a dia" de la acción de la Kanamicina sobre el órgano de Corti, señalan como manifestación temprana la aparición de abundante aparato de Golgi, seguido de lisosomas subcuticulares y aglutinación ciliar. Datos similares a los expuestos anteriormente han sido descritos por Ylikoski (1974), Theopold (1977), Hawkins y Engstrom (1964), Harpur y Bridges (1974), Lim (1976), etc., con distintos antibióticos aminoglucosidos, aunque no existe concordancia sobre la secuencia lesional.

Otros autores, como El Mofty y El Serafi (1966), estudian la actividad de la succino-dehidrogenasa bajo la acción de la Kanamicina, Estreptomicina y Dihidroestreptomicina, comprobando histoquímicamente que se produce una disminución de la actividad de la mencionada enzima a nivel de las células sensoriales, células de Deiters y Ligamento espiral. También determinan el consumo de oxígeno bajo la influencia de las

drogas mencionadas anteriormente, encontrando una disminución notable del mismo, lo que les lleva a postular la existencia de una alteración directa y primitiva del sistema enzimático de la respiración aerobia por los antibióticos. Datos similares han sido publicados por Mizukoshi y Doly (1967) y por Ciges, Quesada y Gonzalez (1972), autores estos últimos que determinan la falta de fijación del rojo neutro por parte de las células sensoriales, un dato sugestivo de una interferencia a nivel de la respiración celular.

En resumen, por tanto, el análisis bibliográfico de las lesiones no ofrece una interpretación clara de las mismas, y salvo el hecho, generalmente admitido, de que los elementos mas dañados son las células ciliadas, no disponemos de mejores conocimientos al respecto. Es indudable que esta situación esta en buena medida determinada por el desconocimiento de la citofarmacología de los antibióticos aminoglucosidos, que, a su vez, condiciona de forma importante el esclarecimiento de la patogenia del problema. Este aspecto será abordado en el siguiente capítulo de esta discusión.

Las teorías existentes sobre la patogenia de la ototoxicidad por Kanamicina y Gentamicina se reducen a dos grandes grupos; una serie de autores (v.i.) proponen una interferencia primitiva sobre la síntesis proteica, en tanto que otros centran el problema sobre el metabolismo energético. Discutiremos primero ambas opiniones para después pasar a la interpretación de nuestros propios hallazgos.

La interacción a nivel de la síntesis de proteínas es defendida por Lundquist y Wersall (1966), quienes describen, como primera manifestación morfológica a nivel de las c.c.e., una alteración de la cromatina con dilatación de la membrana nuclear. Posteriormente, encuentran daño mitocondrial, con vesiculación de las crestas y formación de estructuras lamelares, a la vez que aparecen lisosomas y disminuyen los ribosomas (aunque no se muestran imágenes de este último hecho);

durante todo el proceso, la cutícula y la membrana plasmática se encontraban morfológicamente dentro de los límites de la normalidad. Estos datos son los sillares principales en los que asienta su hipótesis, de acuerdo con la cual los primeros cambios aparecen en la síntesis de proteínas, llegando posteriormente a la alteración mitocondrial. Por otro lado, afirman que la membrana plasmática y la cutícula son resistentes a la Kanamicina, apareciendo lesionada esta sólo cuando se producen cambios severos en las células; no se valoran que cambios bioquímicos en la composición de la membrana celular pueden manifestarse como cambios morfológicos en el citoplasma de las células.

Otros autores, como Farkashi, Black y Briant (1963), encuentran, como primera manifestación patológica, alteración a nivel de los cilios y cutículas, antes que las alteraciones citoplásmicas, y Wersall, Bjorkrot y Flock (1973), con sulfato de Gentamicina, encuentran datos similares a los descritos por Lundquist y Wersall (1966) en párrafos precedentes, consistentes en una disminución de la densidad hialoplásmica en determinadas áreas del citoplasma (interpretadas como dependientes de la desaparición de ribosomas) así como un incremento de cuerpos densos inmediatamente debajo de la cutícula (identificados como mitocondrias degeneradas) y alteraciones ciliares, consistentes en vesiculación, acercamiento y fusión ciliar. Cuando las células sensoriales se encuentran severamente

te dañadas (en estadios últimos), es cuando aparecen las alteraciones nucleares, con edema nuclear y picnosis, a la vez que destrucciones citoplásmicas graves y defectos en la membrana celular. El hecho de mostrar como primer fenómeno desaparición de ribosomas y posteriormente alteración nuclear, les hace pensar que el antibiótico (Gentamicina) actúa sobre el RNA, aunque suponen que también puede ser una alteración inespecífica, fundandose sobre todo en la irregularidad de las manifestaciones morfológicas que presenta el órgano de Corti frente a una agresión. Spoendlin (1966) igualmente, encuentra alteraciones morfológicas nucleares y ribosómicas, sugiriendo que el sitio de acción primario de los aminoglucósidos es a nivel del RNA de los ribosomas (igual que la acción de esta sustancia sobre la bacteria) y señalando, además, que las terminaciones nerviosas no se lesionarían por no sintetizar proteínas.

Gonzalez, Miller y Wasilewski (1972) proponen que los antibióticos aminoglucosidos en general, y la Kanamicina en especial, actuaría a nivel ribosomal, interfiriendose la síntesis proteica, con una lectura anómala y producción de secuencias proteicas incorrectas, no conformadas en el código genético normal.

Darrouzet y Guilhaume (1974), basandose en teorías de otros autores y aplicandolas a sus hallazgos, interpretan que el aumento de aparato de Golgi en las c.c.e. se debe a que, por existir una alteración en la síntesis de proteínas

de las células sensoriales, con producción de proteínas anómalas, serían estos complejos los encargados de englobarlas y , eventualmente, expulsarlas al exterior.

Jarlsted y Bagger-Sjoberg (1977) estudian los cambios en el contenido en RNA de las células sensoriales y ganglionares en animales tratados con dosis muy superiores a las utilizadas por nosotros (de sulfato de Gentamicina) y encuentran una disminución del contenido de RNA desde los primeros momentos, que cae incluso al 50% del contenido normal (19 picogramos/célula); en lo que se refiere a las células sensoriales, observan inicialmente hinchazón y vacuolización citoplásmica, así como degeneración mitocondrial, con posterior distorsión de las células sensoriales, pero sin alteraciones evidentes a nivel ciliar; solo algunos especímenes mostraron lesiones nucleares, consistentes en disminución del contenido cromatínico. Aunque los datos morfológicos de alteración nuclear no son constantes, piensan que la primera modificación que se produce en el órgano de Corti, y en especial en las células sensoriales, es a nivel de la síntesis proteica que secuencialmente produce otras manifestaciones morfológicas citoplásmicas. A largo plazo, el RNA no se recupera, por lo que suponen que el daño sensorial es irreversible. De todas formas, proponen varias hipótesis sobre la alteración de la síntesis del RNA y la disminución de su estabilidad, sin descartar el hecho de que, antes de interferir la síntesis de proteínas, se podría alterar la membrana plasmática.

Todos los autores hasta ahora comentados postulan que los antibióticos aminoglucósidos actúan directamente a nivel de la síntesis de proteínas, basándose en resumen en dos hechos, a saber, la acción directa de estas drogas sobre la síntesis proteica de las bacterias y las alteraciones nucleares y ribosómicas. Efectivamente, estudios con determinados antibióticos sobre gérmenes sensibles a ellos han evidenciado una acción farmacológica sobre la síntesis de proteínas; Milanesi y Ciferi (1966), trabajando con Gentamicina sobre *E. Coli* han observado una inhibición de la incorporación de aminoácidos a las proteínas, al mismo tiempo que no se realiza la incorporación de uracilo a los ácidos nucleicos. Cuando el antibiótico es añadido a extractos de células libres de *E. Coli* en presencia de m-RNA, se estimula considerablemente la incorporación de algunos aminoglucósidos, y en presencia de ácido poliuridílico (poli- U) la Gentamicina induce una mala lectura por estimulación de la incorporación de isoleucina, interfiriendo de este modo la síntesis de proteínas por una mala lectura de aminoácidos.

Benveniste y Davies (1973), en un estudio comparativo de determinados antibióticos aminoglucósidos (entre los que se encuentran la Kanamicina y la Gentamicina) encuentran alteración de la síntesis proteica por acción directa de los antibióticos sobre la subunidad 30S ribosomal. Asimismo, Pestka (1972) y Benveniste y Davies (1973), han comprobado que la sensibilidad de las bacterias a determinados antibióticos está

en relación con la proteína P-10 de la unidad 30S; cuando en las preparaciones de ribosomas se sustituye este factor P-10 por otro obtenido de cepas resistentes a los antibióticos, los ribosomas no son afectados en su capacidad de síntesis de proteína por el antibiótico (Perez Tamayo, 1975). Sin embargo el hecho de que actúen estos antibióticos a nivel de la síntesis de proteínas de las bacterias, no implica necesariamente que actúen a nivel de la síntesis de proteínas de las células sensoriales, síntesis que por otra parte difiere en muchos aspectos de la otra (Lamb et al., 1978).

Por otra parte, los estudios realizados por la mayoría de los autores (excepto los de Bagger-Sjoberg, que miden la cantidad de RNA en estas células) son de tipo indirecto, determinando una serie de modificaciones morfológicas en el núcleo y los ribosomas de las c.c.e. que no concuerdan con las alteraciones generales establecidas para la interferencia de la síntesis de proteínas. El bloqueo de la síntesis de proteínas se puede realizar a varios niveles y, en cada uno de ellos, se manifiesta morfológicamente de manera distinta. Cuando las alteraciones se producen a nivel de la interacción del m-RNA y el ribosoma (Pérez Tamayo, 1975) se produce una pérdida de la estructura de los polisomas, disociándose y apareciendo muchos ribosomas libres, dispersos al azar en la matriz citoplásmica, un hecho no indicado por ningún autor a nivel del órgano de Corti; a la vez, las cisternas de R.E. aparecen dilatadas, las mitocondrias aumentadas de tamaño y fu-

sionadas, y las vesículas del aparato de Golgi se hinchan y expulsan su contenido al exterior. Este hecho ha sido comprobado in vitro, observando que no se produce una incorporación de aminoácidos a proteínas, independientemente que se utilicen factores solubles provenientes del animal intoxicado o de otro animal. Por otra parte, y siguiendo con los patrones sistémicos de interferencia del RNA, la cantidad de material que sedimenta a 80 S disminuye, al mismo tiempo que aumenta el material 45 S; pero, en este caso, los ribosomas no son los únicos afectados, ya que cuando se incorpora el inhibidor in vitro a ribosomas aislados, no se reproducen los defectos observados cuando el inhibidor se administra in vivo, aunque sean incapaces de sintetizar proteínas.

Otra alteración bien tipificada del metabolismo proteico es la que ocurre sobre el t-RNA, especialmente por la purmicina (Perez Tamayo, 1975) que actúa sustituyendo al transfer en el sitio de la formación del enlace peptídico en el ribosoma, produciendo en este caso, como primer dato morfológico, fragmentación de las cisternas del R.E. y posterior dilatación, llegando a conformarse grandes vacuolas separadas por delgados tabiques citoplásmicos; en el seno de estas vesículas se depositan granulaciones esféricas, amorfas y densas a los electrones, de 100 a 200 mn de diámetro. También se producen alteraciones inespecíficas en otras organelas, apareciendo gran cantidad de citosegresomas o vacuolas autofágicas.

Otra serie de cambios bien sistematizados para la síntesis proteica general son los que aparecen en la síntesis nuclear de RNA, habiendose descrito hasta la fecha 4 patrones morfológicos específicos del tipo de interferencia bioquímica, que se conocen como segregación nucleolar, formación de "esferas" nucleares, marginación de la cromatina de la membrana nuclear e hipertrofia nucleolar (Bernhard, 1971); naturalmente, la picnosis, cariólisis y autólisis nuclear son manifestaciones no específicas. En el caso de la segregación nucleolar aparecen 3 zonas morfológicamente distintas en el nucleolo (granular, fibrilar y proteica), con retracción de la cromatina asociada, fenómeno que se ha comprobado para gran variedad de sustancias como proflavina, ácido tánico, dimetilnitrosamina, actinomicina, aflatoxina, daunomicina, mitomicina, etc., que por otra parte no muestran ninguna relación en su composición química. La acción de la actinomicina D, por ejemplo, bloquea la actividad de la RNA polimerasa DNA dependiente, impidiendo la primera síntesis de r-RNA. Otras drogas actúan sobre la alquilación del DNA (proflavina) o directamente sobre la RNA-polimerasa II (mitomicina), pero en cualquier caso se produce una alteración a nivel de la síntesis de RNA nucleolar, con la ya comentada segregación del nucleolo en 3 partes (Simard y Bernhard, 1966) como primera manifestación morfológica (aparece a los 15 minutos de haber inyectado aflatoxina).

La inducción de esferas nucleares, que contienen nucleoproteínas y se considera reversible, a veces aparece conjun-

tamente con la segregación nuclear y es la expresión morfológica del bloqueo de la síntesis de RNA ribosómico pesado (Bernhard, 1971; Svoboda y Soga, 1966). Es menos frecuente que la segregación nuclear y suele aparecer mas tardíamente.

La marginación de la cromatina que se encuentra alrededor de la membrana nuclear, descrita por Simard (1966), también suele acompañar a la segregación nuclear, y suele presentarse cuando las sustancias tóxicas se intercalan entre la hélice del DNA.

Por último, la hipertrofia nucleolar aparece cuando existe una producción excesiva de RNA y una disminución de su transporte al citoplasma celular (Kleinfeld, 1966; Busch et al., 1966). Ha sido demostrada en múltiples estudios y se produce por determinadas sustancias como hidroxiaurea, toyocamicina y agentes alquilantes, pero su mecanismo molecular y bioquímico no está completamente dilucidado.

De todo lo expuesto anteriormente sobre las alteraciones básicas de la síntesis de proteínas, es claro que no tenemos datos suficientes que nos aseguren una acción directa inmediata de los ototóxicos sobre la síntesis de proteínas, y que los datos morfológicos descritos en el órgano de Corti no corresponden con ninguno de los patrones establecidos. Por lo tanto, podemos concluir que, por el momento, no disponemos de una base sólida para sustentar esta teoría.

La otra hipótesis que cobra importancia en cuanto a la acción de este antibiótico sobre el órgano de Corti, es la

que hace referencia a la alteración del catabolismo celular. En este sentido, el primero que la llamó la atención sobre es te hecho fue Nakamura (1957), quien determinó que la ototoxici- dad de la dihidroestreptomicina se debía a una alteración directa de la misma sobre la glucolisis, ciclo de Krebs y fos- forilización oxidativa. Este autor establece una interferen- cia del paso de glucosa a glucosa-6-fosfato, y, además, alte- ración de los grupos sulfidrilos del acetil-CoA que, posterior- mente podría inducir una alteración a nivel de las nucleo- proteínas. Estas conclusiones estan basadas todas ellas en da tos obtenidos por las técnicas de PAS, Feulgen y Gomori, he- cho que nos ahorra mayores comentarios.

Sato, Mizukoski y Daly (1969) estudian el consumo de oxígeno bajo la influencia de sulfato de Kanamicina y Cloran- fenicol, observando una clara disminución de su consumo medi- do por microespirometria. Koide, Hata y Hando (1966) determi- nan la actividad de la succinodeshidrogenasa y NAD-reductasa observando que la mayor parte de las enzimas son mas aparen- tes, como es lógico, en las células de mayor actividad metabó- lica (c.c.e. y terminaciones nerviosas). Los animales trata- dos con distintas sustancias, entre ellas la Kanamicina, pre- sentan, en todos los casos, una importante disminución de es- tas enzimas a nivel de las c.c.e., mientras que las c.c.i., células de soporte y fibras nerviosas del tunel no muestran carencias enzimáticas manifiestas en relación con las obteni- das en animales controles. Todo esto les hace suponer que la

alta actividad metabólica de las c.c.e. es la responsable de la patología a nivel del órgano de Corti, actuando los distintos antibióticos utilizados por ellos a este nivel, inhibiendo el consumo de oxígeno. Por su parte El Mofty y El Serafy (1966) estudian por métodos histoquímicos la succinodeshidrogenasa, y determinan que el foco metabólico más importante, radica a nivel de las c.c.e, c.c.i. y parte apical de las células de Deiters, encontrando una clara disminución del consumo de oxígeno por parte de las cocleas intoxicadas y concluyendo que la acción tóxica de estas drogas se debe a su acción a nivel de enzimas oxidativos de las células del oído interno.

Efectivamente, el que haya una disminución del consumo de oxígeno indica que el metabolismo aerobio se encuentra afectado, pero esto no nos indica a que nivel actúan estas sustancias, ya que alteraciones a muchos niveles nos pueden determinar este hecho, y, además, la disminución de la actividad metabólica ocurre en todas las células que se lesionan, no siendo de ningún modo específica, ni indicándonos que vía metabólica está afectada. En lo que respecta a la succino-deshidrogenasa, el que esté disminuida no demuestra que actúe a este nivel ya que no sabemos que el resto de las enzimas estén normales y que sea una alteración selectiva.

De todas formas, con cualquier hipótesis, un hecho que se da por sentado en todas ellas, es la rápida penetración de la droga en el citoplasma. Sin embargo, esto no está demostrado (Lorenzo-Velazquez, 1979; Schacht, 1974; Robson y Sullivan, 1963), existiendo datos en la literatura que nos informan que

los antibióticos aminoglucósidos no atraviesan la membrana celular. Si consideramos las hipótesis anteriores, defendidas por la mayor parte de los autores, tendríamos que admitir que el antibiótico entre en el interior de la célula de forma fisiológica, es decir, por endocitosis, hecho que no parece producirse con los antibióticos, o mediante transporte activo o pasivo, posibilidad esta que parece estar excluida por los estudios de Robson y Sullivan (1963).

Por lo tanto, si los ototóxicos no atraviesan la membrana de forma fisiológica lo deben realizar por medio de una alteración primaria a nivel de la membrana celular, sobre la que existen algunos datos en la literatura. Inuma, Mizukoshi y Daly (1967) piensan que los antibióticos aminoglucosidos interfieren la síntesis de proteínas, pero que posiblemente actuen primariamente a nivel de la membrana, afectándola, y, posteriormente, una vez en el interior de las células, actuen a otro nivel. Schacht (1974), en un estudio de la acción de la Neomicina sobre el metabolismo de los fosfolípidos en el oído interno, encuentra gran alteración a nivel de los fosfoglicéridos, fundamentalmente de los polifosfoinosítidos (Fosfatidilinositol), componentes de la membrana implicados en la permeabilidad de la misma. La mencionada alteración se expresa como una disminución de la incorporación del P^{32} en el fosfatidilinositol a nivel del órgano de Corti, sugiriendo que al menos la Neomicina (antibiótico aminoglucosido) actúa a nivel de la membrana celular, alternando el transporte iónico, e inhibien

do el recambio de calcio o de los polifosfoinositidos. Pittinger (1972), por su parte, en un estudio sobre la acción de determinados antibióticos, entre los que se encuentran la Kanamicina y Gentamicina, describe su acción sobre la unión neuromuscular, a la que bloquean debido a una acción directa sobre la membrana y afectación principal sobre el metabolismo del calcio. Wersall y Flock (1964) demuestran la reversibilidad de la acción de la estreptomicina a bajas concentraciones produciendo exclusivamente alteraciones de los microfónicos cocleares por bloqueo funcional de la membrana. Wersall, Bjorkyoth, Flock y Ludquist (1971) consideran que la fusión de las células sensoriales se debe a la incorporación de Gentamicina a la membrana plasmática con cambios en toda su superficie. Symonds (1978) piensa que aunque el mecanismo ototóxico de estos antibióticos no está dilucidado completamente, es posible que interfieran los mecanismos de transporte iónico sodio-potasio a nivel de la membrana, produciéndose alteraciones en la homeostasis iónica de la endolinfa. Las células ciliadas cambian su gradiente osmótico, quizá por una acción directa a este nivel, y la rapidez con que aparecen los cambios electrofisiológicos pueden ser debidos a un bloqueo de la actividad metabólica por inhibición de los procesos necesarios para mantener los mecanismos de transporte a través de la membrana.

A diferencia de los trabajos comentados anteriormente para la síntesis de proteínas y catabolismo celular, estos

últimos aparecen mas contundentes y creibles ya que Schacht (1974) por ejemplo, determina el metabolismo del fosfoinositol, Pittinger (1972) estudia ampliamente la acción sobre la membrana de la unión neuromuscular, y Wersall y Flock (1964) miden los microfónicos cocleares en íntima relación con la membrana celular. Por todo esto, parece ser que efectivamente actúan a este nivel.

Aparte de estos hechos, Ilberg, Spoendlin y Arnold (1971), mediante autorradiografía, demuestran la captación específica de dihidroestreptomicina (DMS) por las células sensoriales; inyectando en la coclea una solución isoosmolar de H^3 -DMS se comprueba su depósito sobre las células sensoriales y fibras nerviosas mielínicas, mientras que los demás grupos celulares no muestran mayor radioactividad que la de los líquidos circulantes.

Estos dos hechos nos hacen suponer que las células sensoriales poseen unos receptores únicos en el órgano de Corti que producirían reacciones cruzadas con el antibiótico, y esta reacción antibiótico-receptor puede lesionar el metabolismo de estas células, como ocurre con los anticuerpos citotóxicos (referencias en Merchan, 1980).

Si nosotros partimos de una secuencia etiopatogénica en la que consideramos una acción directa del antibiótico sobre la membrana celular, podemos comprender las alteraciones morfológicas observadas por nosotros. De esta forma, al lesionarse la membrana celular se produciría un aumento de permea-

bilidad de la membrana, que conllevaría un ingreso continuado de Na en la célula, tendiendo esta a hacerse tumefacta, no solo el citoplasma sino también los organoides. En todos aquellos casos en los que hay una alteración primaria a este nivel, se produce primeramente una alteración del retículo endoplásmico liso, con dilatación del mismo y posteriormente una afectación mitocondrial, con contracción de las mismas e inversión de su imagen normal. Esta carga de Na y agua puede agotar la concentración de ATP, y secundariamente, afectar a las demás estructuras citoplásmicas e incluso nucleares (Smuckler, 1968). Esta alteración celular es reversible en un principio, cuando hay afectación del sistema vacuolar, e incluso hasta las primeras manifestaciones mitocondriales, pero posteriormente se imbrican otros mecanismos secundarios, como agotamiento de la bomba de sodio por afectación de la respiración aerobia y de la síntesis de ATP.

Trump, Croker y Mergner (1970) han establecido una secuencia ya clásica de alteraciones ultraestructurales que aparecen en las células del organismo tras la afectación hidrónica que se produce cuando existe una alteración a nivel de la membrana celular, sea cual fuese la causa determinante. La primera manifestación observada con M.E. consiste en una alteración del sistema vacuolar con dilatación masiva del R.E. (degeneración hidrónica), que posteriormente se hace mas manifiesta, hasta que aparece la alteración mitocondrial antes descrita, por alteración de las membranas mitocondriales,

coincidiendo con el agotamiento de las reservas de energía de la célula. Al mismo tiempo comienzan a aparecer las alteraciones en los contornos de la membrana plasmática, desapareciendo las diferenciaciones de membrana (como cilios y microvellosidades), sin alterarse por el contrario, las uniones intercelulares de tipo desmosómico u ocluyentes. Posteriormente, las alteraciones mitocondriales se hacen mas manifiestas apareciendo depositos cristalinos en su interior, observándose además alteraciones nucleares que se hacen cada vez más aparentes hasta llegar a la destrucción total del núcleo.

Las primeras manifestaciones se consideran, ya en el caso concreto del órgano de Corti, como un mecanismo de reacción de la célula frente a la lesión en la membrana celular (Bagger-Sjoberg y Wersall, 1976) y son daños reversibles, mientras que cuando aparecen las alteraciones nucleares y las irregularidades de la membrana, las células entran en un periodo de irreversibilidad total. Estas alteraciones son superponibles a las nuestras en lo que respecta a las alteraciones citoplásmicas de las células sensoriales, sin llegar a encontrar alteraciones nucleares (que aparecen en el último estadio) quizás por la escasez del tiempo utilizado para el examen de las lesiones y la pequeña dosis utilizada. A este respecto (Spondlin, 1965; Ylikoski, 1974) en un estudio cronológico de la acción de determinado antibiótico aminoglucosido, tanto en experiencias humanas como experimentales, observan que las manifestaciones morfológicas tardan en aparecer, y que es con

veniente dejar bastante tiempo a los animales intoxicados para observar destrucciones completas, a no ser, como es lógico, que las dosis utilizadas sean muy superiores a las empleadas por nosotros o por estos autores.

Aparte de estas manifestaciones, explicables por una alteración primaria a nivel de la membrana celular, el aumento de las cisternas de R.E., fundamentalmente a nivel de las células ciliadas puede tener otra explicación. Es un hecho conocido, que el R.E. desempeña una función de detoxicación y que aumenta en número en aquellas circunstancias en las que las células contienen gran cantidad de droga en su interior, y así se ha comprobado que cuando se administran grandes cantidades de fenobarbital, 3-metilcolantreno, esteroides, etc., se produce un considerable aumento del R.E.L. hepático, con aumento de las enzimas relacionadas con la detoxicación. En el órgano de Corti no se ha comprobado que este fenómeno ocurra, pero es lógico pensar que el R.E.L. posee la misma función en otras células del organismo, y que guarde alguna semejanza con este proceso en el caso del acúmulo de antibióticos en el interior de la célula. Además, hemos de remarcar que el aumento en número de vesículas de R.E. (o de membranas fenestradas) suele presentarse en células que no presentan las primeras alteraciones descritas, consistentes fundamentalmente en una dilatación de las vesículas de R.E.

Otro hecho que aparece de forma constante a nivel de las c.c. es la presencia de gran cantidad de aparato de Golgi.

Este fenómeno ha sido descrito por otros autores como Darrouzet y Guilhaume (1974), quienes lo han interpretado como un mecanismo necesario para la expulsión de determinadas proteínas anómalas que se producirían en el citoplasma de las células sensoriales, suponiendo, por las teorías de otros autores (Spoendlin, 1966; Gonzalez et al., 1972) que la interferencia en la síntesis de proteínas determinaría una mala lectura de los ribosomas en la producción de proteínas no codificadas en el mensaje genético. Por nuestra parte creemos más lógico pensar que este cambio pudiera relacionarse con la reposición de la membrana celular lesionada (Morré et al., 1971) por varias razones. En primer lugar no hemos encontrado manifestaciones morfológicas que nos hagan pensar en una alteración en la síntesis de proteínas y por otra parte, parece ser que, por las razones comentadas anteriormente, estos antibióticos, antes de entrar en la célula, lesionan la membrana celular.

La parte apical de las células sensoriales posee una estructura especializada como son los esterocilios y la cutícula que también presentan cambios morfológicos evidentes desde los primeros estadios de lesión hasta los últimos. Estos elementos se hinchan, pierden su rigidez, se caen sobre la superficie endolinfática, llegan a desaparecer en algunas células y a veces conformando cilios gigantes. Las primeras manifestaciones se podrían explicar por el mismo mecanismo que las alteraciones citoplásmicas, aunque las manifestaciones no pueden ser las mismas por no existir a este nivel R.E. El au-

mento de permeabilidad de la membrana que rodea a los cilios, produciría una entrada pasiva de agua alternando la matriz hialoplásmica ciliar y la de la cutícula, con lo cual nos explicaríamos las imágenes de cilios hinchados y caídos sobre la membrana reticular. Otra posibilidad, señalada ya por algunos autores (Wersall et al., 1971) para explicar este hecho, sería una alteración de la cubierta extracelular, constituida por mucopolisacáridos, que determinaría, según Spoendlin (1968) y Wersall, Bjorkroth, Flock y Lundquist (1973), una incapacidad para despolarizarse y una mayor posibilidad de ataque de estos elementos, que así perderían sus características estructurales y conformarían masas irregulares de cilios. Por otra parte las podríamos considerar como alteraciones secundarias a las de la parte inferior de la célula, y así las alteraciones hidroiónicas del citoplasma determinarían una alteración de la cutícula, con la consiguiente pérdida de rigidez ciliar; no obstante la presencia de cilios gigantes y de masas ciliares irregulares se explican mal por este proceso.

Una posibilidad sugestiva es pensar que el aumento del aparato de Golgi (Darrouzet y Guilhaume, 1974), que por otra parte siempre se observa en la parte más apical de las células sensoriales, produciría un aumento de lisosomas (Wersall et al., 1973; Ades y Engstrom, 1973; Ylikoski, 1974) y estos a su vez, serían los encargados de alterar la cutícula, lisandola y secundariamente alterando la estructura ciliar. Efectivamente, en condiciones normales, las células ciliadas no

poseen lisosomas secundarios, pero el hecho de que aparezcan en determinadas situaciones patológicas, no indica necesariamente que aumenten, aunque si que son más activos. Este fenómeno (la presencia de lisosomas secundarios) puede ser debido a una alteración de la cutícula, que activaría los lisosomas primarios (como ocurre normalmente en la célula cuanto una estructura se altera) o puede ser que la membrana del lisosoma se altere por una alteración del pH o de la composición iónica del citoplasma (Trump et al., 1965; Dianzani, 1963), no teniendo por que ser obligado el hecho de relacionar el aumento lisosomal con el aumento de aparato de Golgi. El hecho de encontrar alteración en la densidad electrónica de la cutícula (Fots. 14,15,34,35 y 39) e irregularidades de la misma (Fots. 37,38 y 95) que coinciden con la aparición de lisosomas y restos de cutículas dispersas por el citoplasma celular, hacen pensar que es posible que la alteración primaria de la cutícula por una alteración hidroiónica general de la célula (por lesión directa a nivel de la membrana) determinaría una activación secundaria de los lisosomas (elementos que por otra parte, aparecen cuando las manifestaciones morfológicas de las células ciliadas son evidentes) con la consiguiente lisis de la cutícula.

Al mismo tiempo, las demas estructuras que conforman el caracol membranoso, también reaccionan, y es curioso como estructuras tan distantes topográficamente como las células interdentes y las células del surco externo y prominencia

espiral presentan las mismas manifestaciones morfológicas en los mismos estadios de lesión.

Según los trabajos de Iurato (1961) y de otros miembros de nuestro grupo (Merchan, 1979), existen datos morfológicos para considerar el limbo espiral interno como un área probablemente implicada en el metabolismo y excreción de la endolinfa. Como es sabido, desde los trabajos de Angelborg y Engstrom (1974) e Ishiyama (1970), los cuerpos de las células interdentes se mantienen bañados por un líquido similar a la perilinfa, merced a que, como demuestran estos autores, no existe una barrera anatómica al paso iónico ni en la lámina espiral ósea ni en la zona vasculo-epitelial de Borghesan. De este modo, la barrera iónica a este nivel estaría situada precisamente en las células interdentes, que se mantienen unidas mediante claras uniones ocluyentes. Los trabajos de Axelsson y Vertes (1978) sobre la vascularización de la cóclea aportan el hecho de la existencia de una rica vascularización en el área límbica. Considerando estos factores, es indudable que este área, tanto por constituir tanto un sello anatómico a los iones como por ser un posible lugar de elaboración de endolinfa, debe de ser una de las áreas expuestas a una alta concentración de antibióticos, tanto más, si se le supone una posible función detoxicante. En apoyo de la mayor concentración de tóxicos a este nivel, debemos recordar varios trabajos (Stupp et al., ; Voldrich,) en los que se consideran la perilinfa como el primer punto de arribo de los

antibióticos ototóxicos. Este hecho es, por otra parte, lógico, si se tiene en cuenta que toda la vasculatura del oído está situada en un compartimento bañado por perilinfa y aislado por una barrera anatómica bien conocida (zónulas ocludens). Desde los trabajos de Duvall (1968) y Lawrence (1966 a) sabemos que un fallo de esta barrera iónica y la consiguiente toma de contacto de la perilinfa y la endolinfa, tiene un efecto más destructivo sobre la superficie del órgano de Corti que la sustancia más tóxica; es por ello, que no podemos dejar de analizar, previo a cualquier otra disgregación, la integridad anatómica tanto del aparato de filtración (v.i.) como del sello iónico. De este modo, podremos determinar dentro de un esquema lesional general, qué efectos morfológicos corresponden a la acción directa del antibiótico y cuáles al fallo de los elementos encargados del mantenimiento de la endolinfa.

Las alteraciones observadas en los grupos de células interdentes corresponden a una alteración iónica a nivel de los complejos que constituyen una barrera. Esta capa celular, según Merchan et al. (1980, b), estaría conformada por la membrana basal y por las prolongaciones de las células interdentes que apoyadas sobre ella delimitan espacios en hendidura. Estos elementos, constituyen, según Merchan et al. (1980, b), una primera barrera a las grandes moléculas entre el eje límbico y las células interdentes. Siempre siguiendo las descripciones de estos autores, es posible establecer, ya en el propio grupo de células interdentes, un flujo iónico intra-

canalicular y otro transcelular, favorecido por las abundantisimas uniones comunicantes entre las diferentes componentes del grupo. De este modo, y resumiendo los hallazgos de estos autores, las células interdental absorbería las sustancias que cruzaran los pseudoporos en hendidura y las acumularía en grandes vacuolas intracelulares que serían expulsadas posteriormente al espacio endolinfático. A la luz de estos hechos, nuestros hallazgos, presididos por una dilatación manifiesta de la primera barrera (pseudoporos) y una dilatación de los canales, deben comentarse con suma precaución.

Como puede observarse en las fotos 18,56,70,83 y 103, la dilatación de los canales conlleva dos hechos prominentes; en primer lugar los mecanismos de ampliación del contacto con el líquido intracanalicular (interdigitaciones) disminuyen en número, debido a un manifiesto estiramiento de la membrana celular. Por lo general (Fot. 3, flecha), a pesar de ser muy grandes las dilataciones observadas, nunca lo son tanto como para dislacerar las uniones comunicantes, que, eso si, pueden mostrarse parcialmente distorsionadas por la tracción; el significado que pueda tener la conservación del flujo iónico transcelular es sin duda primordial, puesto que una interrupción de ese obligaría a considerar que las células mas basales del grupo interdental quedarían desconectadas, con alteración de la función general de estos complejos. Como esta desconexión no ocurre en forma manifiesta en nuestras series experimentales, suponemos que una dosis o un tiempo de exposi

ción más prolongado quizá suponga una dislaceración total (con el consiguiente efecto mencionado) sobre el flujo transcelular ascendente hacia el espacio endolinfático.

En relación con los cambios citoplásmicos de la barrera celular propiamente dicha, tendremos que comentar el posible significado que tengan en este sentido el claro aumento del sistema vacuolar. El aumento de aparato de Golgi, sin duda el efecto mas relevante de todos los observados en el citoplasma, debe corresponder a una activa producción de membranas. El destino de estas membranas puede ponerse en relación con dos hechos esenciales, como son el posible incremento de cuerpos de origen lisosómico o, lo que parece más lógico, con el aumento de vacuolas intracitoplasmáticas de secreción endolinfática. La valoración cuantitativa del número de estas vacuolas es sin duda relativa, considerando que en condiciones normales es necesario estudiar varios grupos de células interdentes para localizar dos o tres elementos de este tipo. Es decir, que considerando la escasez de estas vacuolas, cuya principal característica es su gran magnitud, su valoración con cortes ultrafinos resulta practicamente imposible.

Todos estos cambios en la unidad de filtración que son los complejos interdentes debe entenderse también en otro sentido; así, según Ross (1978), el aumento del espacio intercelular es manifestación última de un bombeo celular de iones. Armonizar esta postura con los hallazgos morfológicos mencionados resulta sin duda problemático y solamente se consigue

si se considera que las concentraciones osmolares de la perilinfa han sufrido un cambio previo. Este cambio podría derivarse de una alteración previa de las células sensoriales, tanto más si consideramos, como lo hacen Ilberg, Spoendlin y Arnold (1971), que el único lugar específico para la fijación de los antibióticos aminoglucósidos son estos elementos.

Dado el gran volumen de perilinfa existente en el conducto endococlear, lo segmentario de las lesiones de las células ciliares, y la magnitud del cambio osmótico que sospechamos, creemos que imágenes como la de la foto 60, sugieren una posible participación vascular en la alteración a este nivel, si bien estos hechos deberan ser comprobados mediante técnicas mas sofisticadas encaminadas a esclarecer este punto. Por otra parte, no debemos olvidar el desconocimiento que existe en la actualidad sobre las características morfológicas y funcionales de la barrera hemato-laberíntica.

Otro hecho significativo, que aparece en estas células, es el aumento de R.E.L. Este hallazgo es interpretado en otras situaciones tóxicas, como un mecanismo de detoxicación celular. Una vez más tendremos que analizar la morfología de esta serie experimental, con la precaución que se deriva del estudio de un área no bien conocida en condiciones normales. Como quedo dicho anteriormente, la única área celular del órgano de Corti que fija los antibióticos aminoglucósidos (DMS) es, según Ilberg, Spoendlin y Arnold (1971), la de las células sensoriales, y por ello radicar un mecanismo de detoxicación

en unos elementos que seguramente no incorporan cantidades apreciables de antibióticos, puede resultar artificioso. De este modo, de no ser que el comportamiento de la Gentamicina y Kanamicina fuera absolutamente diferente al de la dihidroestreptomycinina (fenómeno dudoso, dado su similitud química y su mecanismo de acción sobre las bacterias), tendríamos que interpretar el aumento de R.E. (que por otra parte no es constante en todas las series) como un hallazgo casual, o como una reacción no filiada de estas células. En cualquier caso, la valoración de este hallazgo depende en gran parte de la fiabilidad de los estudios de Ilberg, quienes parecen fijar primordialmente su atención sobre las células sensoriales. Lógicamente tendremos que esperar la aparición de un estudio de similares características realizado específicamente sobre el área celular que nos ocupa. El cualquier caso deberemos analizar, además estos cambios morfológicos observados en el contexto del conjunto de las interacciones iónicas del oído interno. Es indudable que un fluido de las características iónicas de la endolinfa, que posee 140-160 mEq/l de K y solamente 12-16 mEq/l de Na ha de estar producido por un mecanismo de concentración activa de K a partir de un medio como es la perilinfa en la que estas proporciones se invierten (4-5 mEq/l de K, 130-150 mEq/l de Na) (Rauch, 1972). De este modo, y a la vista de los hallazgos de este último autor, si consideramos como parece evidente que las células interdentes participan, bien con un mecanismo lento, bien mediante un proceso

de difusión en la producción de la endolinfa, tendremos que aceptar en ella ese mecanismo activo de concentración de iones K. De este modo, el anteriormente mencionado trabajo de Ross (1978), quien considera la hendidura intercelular dilatada (canalículos) como la representación morfológica de un bombeo lateral de iones, puede ser interpretado en este caso, como una expulsión de Na y H₂O por parte de estas células, muy probablemente inducido por un mecanismo de alteración iónica, inducido por las células sensoriales y en las que participarían los capilares. Pero no solo existen diferencias cuantitativas en lo que respecta al Na y K, sino que otros iones como Mg, Cl, bicarbonato, etc., también tienen distinta concentración, y es probable, o por lo menos no se puede descartar, que estos también influyan en este proceso.

Las células profundas, constituyentes del eje del corion limbico, son de significación funcional desconocida hasta el momento. Los estudios realizados sobre este área (Iurato, 1961) se limitan a hacer una descripción morfológica de esta área sin eventurar ninguna conclusión sobre su posible misión. En nuestras imágenes (Fots. 31, 32 y 58) hemos podido observar de forma repetida el hallazgo tanto de lisosomas y cuerpos residuales, como detritus celulares en la vecindad de estos elementos, apareciendo en ocasiones también en relación con las áreas próximas a los pequeños capilares del limbo. La posible misión fagocitaria y de eliminación de desechos asignada por otros autores (Angelborg y Engstrom, 1974) a las cé-

lulas de recubrimiento timpánico de la membrana basilar y/o a las células del surco externo, hacen presuponer que en condiciones normales estas dos áreas del laberinto membranoso se encargan de una limpieza general de las linfas. En una situación en la que se supone un estado agresivo de las estructuras del iodo interno, muy posiblemente los productos de excreción y detritus originados por el estado reactivo han de exacerbar dicho mecanismo postulado para las células mencionadas a tal extremo que un proceso inédito quizá por lo "leve" en la región del limbo espiral, pueda ser observado con cierta claridad. Así pues, y sin ánimo en ningún caso de buscar similitudes histogenéticas entre las células del surco externo, las de la membrana basilar y las del eje del limbo, si creemos que al menos estos dos últimos poseen en común esta importante misión.

El papel funcional que pueden jugar las células del surco interno, dentro del órgano de Corti, es hasta la fecha desconocido. Iurato (1962) establece por primera vez una forma de relación especial entre estas células y los grupos interdentes del área más externa del limbo. Posteriormente, los trabajos de Merchan et al., (1980, b) dejan perfectamente establecido el hecho de que los grupos interdentes más externos del limbo no quedan enmarcados en un caliz de fondo ciego, como es lo habitual, sino que se incurvan hacia la cara externa del limbo y finalizan mediante una estrecha relación de contacto con las células del surco interno. Los autores men-

cionados postulan por primera vez, basándose en la importancia iónica de la zona y en la sugerente morfología de este dispositivo, que se ha de tratar de una agrupación destinada muy probablemente a una función de recambio del status iónico de las linfas. Desde este punto de vista, y siguiendo esta línea de pensamiento, es posible relacionar estrechamente las imágenes patológicas observadas en las células del surco interno con el aspecto ya descrito anteriormente de los complejos interdentes más externos.

Las principales alteraciones que se observan en las células del surco externo corresponden, como quedo dicho en el apartado correspondiente, a una variación de la forma externa, con un aspecto mas alargado de los polos apicales que contrastan con el aspecto turgente y redondeado de los animales testigos. Además de ello, resulta muy evidente el incremento de vesículas y cisternas citoplásmicas, así como el hallazgo de cuerpos multivesiculares y ocasionalmente lisosomas. Debemos resaltar en esta ocasión la importancia del enclave topográfico de estas células. No cabe duda que el hecho de constituir, por medio de las uniones ocluyentes dispuestas en la superficie, un sello anatómico entre perilinfa y endolinfa, ha de obligar a que una alteración por leve que sea en cualquiera de estos dos líquidos de diferente composición produzca alteraciones morfológicas en su seno. La interpretación de los hallazgos morfológicos mencionados anteriormente debe realizarse en el contexto de los singulares intercambios ióni

cos que se verifican a este nivel.

De hecho, la aparición de cuerpos multivesiculares, la dilatación de las cisternas y el colapso celular que representan los polos apicales adelgazados y prominentes, sugieren, junto con otros datos que veremos mas adelante, la posibilidad de un aumento de captación iónica y dilución endolinfática. En este sentido abogan las imágenes (Fot. 4) de los grupos de células interdentes en contacto con este área. De hecho, la repetición con que hemos estudiado esta zona nos conduce a afirmar, con solida base, que el hallazgo de canalículos intercelulares de características normales y el cambio de citoplasma (muy rico en cisternas de aparatos de Golgi), es mucho mas que un fenómeno fortuito. La interpretación del mismo en el contexto de las variaciones iónicas a las que nos venimos refiriendo, resulta problemático. En cualquier caso, una sugerente hipótesis, que habrá de ser confirmada o refutada por medio de la aplicación de trazadores y el estudio ultrahistoquímico de las membranas, seria la de que las células del surco externo aporten un sustrato iónico a estas células extraordinariamente rico como resultado de la depuración de la endolinfa. De este modo, por medio del flujo transcelular facilitado mediante las abundantes uniones comunicantes que se sitúan en esta zona, se establece un medio intracelular con una concentración iónica adecuada y suficiente como para no requerirse el bombeo intracanalicular de iones tan intenso como el que se necesitaba a otros niveles del limbo. De cualquier

forma, el hallazgo en el citoplasma de las células interdentales de esta zona de gran aparato de Golgi y algunas vacuolas de regular tamaño (Fot. 4, flechas), sugieren al igual que sucedió en los restantes grupos de células interdentales, una vía de transporte activo importante y posiblemente fugaz de iones. Desde este punto de vista creemos que la morfología general del área sugiere una vía preferente de reciclaje (linfa subtectorial-células del surco-complejos interdentales externos-espacio endolinfático), facilitada mediante uniones comunicantes, sobre la anteriormente aceptada para los restantes grupos de células interdentales, que se establecería desde el tejido del eje del limbo hacia los canales y células interdentales. La identidad de los iones que circulan en un sentido o en otro, no puede ser establecida en un estudio puramente morfológico como el nuestro, siendo necesario el conocimiento previo de la composición de las linfas alteradas para el esclarecimiento total de los hechos que quedan apuntados.

Según el último giro que ha adquirido la investigación sobre la función de las células de Deiters (Vinnikov y Titova, 1964; Merchan, 1979) se debe admitir una dualidad de funciones para estos elementos, y así estas células, además de una misión de soporte a la luz de las investigaciones de estos autores, deben con toda probabilidad de tener un importante papel tanto en el mantenimiento del microambiente del polo basal de la célula sensorial, como del que se crea en los espacios de Nuell. Para fundamentar esta última función, los autores men-

cionados argumentan la existencia de microvellosidades en el polo bañado por endolinfa de la prolongación falángica de estas células, asociada con un eje de microtúbulos cuya misión puede relacionarse no solamente con el soporte o la capacidad de contracción, sino además como es sabido con la posibilidad trófica. Un trabajo muy ilustrado en este sentido es el de Schunknecht y Woellner (1955) quienes mediante la aplicación de un trauma acústico intenso, observan que las fibras nerviosas y por consiguiente los polos sinápticos, no se alteran sin la previa lesión de las células de soporte. En este sentido, parece claro, y así lo postula Merchan (1979), que las implicaciones que puedan tener estas células en el metabolismo hidroiónico de la región han de ser valoradas con suma cautela. Los polos bañados por endolinfa de las prolongaciones falángicas muestran una distribución anárquica y una gran irregularidad de tamaño en superficie, coincidiendo con aquellos segmentos lesionados en los que se observa una desaparición de grupos de células ciliadas (Fot. 98). En estas situaciones, tanto la morfología de estas áreas con MEB como la observación repetida de muchas muestras, parece apuntar hacia el hecho de que las zonas en las que se produce la expulsión del polo apical de las células ciliadas (Theopold, 1977) subsigue a un cubrimiento del defecto ocasionado por este motivo por medio de las prolongaciones de las falanges de Deiters próximas. Este hecho conlleva un doble efecto sobre la superficie bañada por endolinfa del órgano de Corti,

ya que no solamente se consigue restaurar la integridad de la membrana reticular, sino que, además, se incrementa, duplicándose o triplicándose la superficie absorptiva de esta área. No cabe duda que si consideramos este hallazgo, al igual que todas las imágenes que venimos detallando en la descripción, en relación a un esfuerzo del órgano de Corti y sus estructuras adyacentes, para mantener las concentraciones iónicas de las linfas, estamos frente a un mecanismo mediante el cual se produce el sacrificio de algunas células sensoriales en favor del mantenimiento antes citado.

En caso de que no aceptemos el fenómeno regenerativo originado por el crecimiento y posterior fusión de las falán- ges sobre la zona de expulsión ciliar y recubrimiento de microvillis de las cutículas de las células sensoriales, no cabe duda que el efecto final sería el mismo; sin embargo, y como quedó dicho anteriormente, las imágenes morfológicas observadas por nosotros, apuntan directamente hacia la primera posibilidad. En apoyo de esta segunda teoría, está el hallazgo fortuito de algunos grupos, nunca abundantes, de microvellosidades sobre las cutículas de las células sensoriales desnudas de cilios, siendo por el contrario muy frecuente la observación de protrusiones cuticulares hacia el espacio endolinfático (Fot. 99). Por otro lado, el hecho de observar microvellosidades de grandes dimensiones (Fot. 100) y de eje central hiperclaro (Fot. 101) es sugerente de la misión resorptiva de estas excrescencias. El citoplasma de estas células

muestran principalmente variaciones de su densidad hialoplas-
mica y dilataciones, pero no aumento de su sistema vacuolar
citoplásmico. Este hecho deberá relacionarse con una altera-
ción seguramente doble, derivada tanto de la alteración de la
composición iónica de la endolinfa como de la perilinfa, como
del metabolismo de las células ciliadas. En definitiva, cree-
mos que las imágenes observadas en nuestras series experimen-
tales, abogan a favor de un importante papel para el manteni-
miento hidroiónico por parte de estas células, y constituyen
la expresión de una adaptación de estas células para el res-
tablecimiento del mencionado equilibrio.

No cabe duda que en caso de que consideremos como cau-
sante de la alteración iónica de las linfas a las células ci-
liadas (basándonos en el depósito exclusivo del antibiótico
en este nivel, Ilberg et al., 1971), las células de Deiters
por su situación topográfica, deberían ser las primeras en
afectarse dada su continuidad anatómica con estos elementos.
En este sentido cabría esperar una mayor afectación de estas
estructuras, de no ser que, como creemos, constituyan autén-
ticos enclaves para el mantenimiento hidroiónico de la zona.
De hecho las muestras observadas por nosotros, sugieren una
coincidencia entre el grado de afectación de las células sen-
soriales y de las células de Deiters en una misma zona. Viene
al caso valorar aquí un parámetro de gran importancia para
conocer el grado de compensación del microambiente iónico,
que puedan conseguir las células de Deiters. Nos referimos a

las fibras nerviosas y polos sinápticos que, a diferencia de los trabajos de Schuknecht y Woellner (1955), nosotros no hemos observado alteradas a este nivel. Este hecho, por otra parte lógico, dada la diferencia de tratamiento aplicado por estos autores, indica en nuestra opinión tanto que las células de Deiters son capaces todavía de mantener su propio equilibrio interno, como el del medio extracelular. Si condieramos la función de soporte tanto de estas células como de los pilares, veremos que las imágenes obtenidas por nosotros están llenas de datos, tanto directos como indirectos, que abogan en favor de la relativa preservación frente al tóxico de estas estructuras. Así, es frecuente observar en áreas de lesión de las células sensoriales como los pilares presentan una perfecta regularidad de sus microtúbulos y microfilamentos, así como también de las condensaciones capilares y basales de los mismos. Imágenes como la de la Foto 114, constituyen una excepción a la regla y por otro lado se muestran acordes con el hallazgo de algunos cuerpos lisosómicos y con imágenes similares en el área intracuticular de la célula ciliada. Es muy posible que estos fenómenos esporádicos estén en relación con alguna captación del antibiótico por parte de estas células, ya que presuponen una disolución de la condensación capital de los pilares en base a un efecto osmótico secundario parece menos lógica que la equiparación con un fenómeno que sucede con exactamente las mismas características que en las células sensoriales, no cabe duda que lo esporádico de este hallazgo

puede relacionarse con captaciones mínimas de antibióticos posiblemente no registrables con las técnicas microrradiográficas. Los datos indirectos a favor de una preservación de la función de soporte en el órgano de Corti, vienen a estar presididos por el hallazgo paradójico de zonas de la membrana reticular absolutamente desestructuradas en lo que a los penachos ciliares se refiere, pero que mantiene una superficie perfectamente rectilínea (Fots. 97 y 98).

De este modo y en resumen, creemos, a raíz de nuestros hallazgos morfológicos, que de las dos funciones postuladas para las células de Deiters, la que principalmente se afecta es precisamente la relacionada con el status hidroiónico de las linfas pericortidianas.

La membrana basilar, descartada la hipótesis de Engstrom (1960) al confirmarse que no posee entidad morfológica ni funcional para delimitar un cuarto compartimento iónico (cortilina), debe plantearse para discusión concibiéndola exclusivamente en sus dos aspectos funcionales mas importantes como son el mecanismo (Bekesy, 1941; Voldrich, 1978, etc.) y el postulado por Angelborg y Engstrom (1974) quienes le asignan, a su porción celular, capacidad fagocitaria y de digestión de residuos. En este último sentido, la capacidad de las células de recubrimiento timpático para incluir en su citoplasma sustancias externas puede observarse discretamente exacerbada en algunos animales de nuestra serie experimental (Fot. 64). Además de esto, y en el contexto de la alteración hidroiónica de las linfas, es

posible observar, seguramente como lesión inespecífica, dilataciones del sistema de cisternas de estas células. La observación de los componentes fibrilar y anhisto de esta capa con las características habituales hace pensar que seguramente las posibilidades mecánicas de la membrana basilar se mantienen preservadas para los tratamientos aplicados por nosotros.

Hasta hace muy poco tiempo (Merchan et al., 1980, a) no se conocían las posibilidades funcionales del área más externa del órgano de Corti y más concretamente de las células de Hensen. Los estudios de estos últimos autores demuestran la existencia de grandes vacuolas lipídicas, asociadas muy probablemente con un proceso de secreción continuo y segmentario. Las imágenes de estos autores dan evidencia (con MEB) de la existencia en esta área de una serie de horadaciones en relación con un material homogéneo y anhisto que sale de ellas. Nuestras imágenes muestran algunas áreas de la superficie del órgano de Corti (Fcts. 46 y 121) en las que el proceso observado por estos autores es especialmente manifiesto. La hipótesis que sugieren, según la cual la membrana tectoria (anclada sobre el área de las células de Hensen) se relacionaría más estrechamente con los polos ciliares, posee en este caso interés especial. Si damos por buena esta hipótesis, y considerando que en esta situación patológica la secreción de grasa se encuentra aumentada, posiblemente estemos frente a un mecanismo que posibilite el mantenimiento de las relaciones cilio-tectoria en penachos en los que se ha producido una

alteración de la cutícula o del eje del cilios.

Todas las estructuras de la pared externa de la escala media, con excepción de la estria vascular, constituyen hoy día una incognita. Distinguimos en este área como es sabido, cuatro componentes que son las células de Claudius y epitelio de la prominencia espiral, las células del surco externo, la estria vascular y lo que Merchan (1979) denomina corion externo. Analizaremos secuencialmente y en conjunto todas y cada una de estas estructuras.

El significado fisiológico de las células de Claudius, y junto con ellas del epitelio de la prominencia espiral, no debe diferir mucho del que poseen otras estructuras que tapi-zan la escala media. Es decir, el hecho de que posean abundantes microvellosidades en superficie y zónulas ocluyentes en las caras laterales superficiales de las membranas, hacen su-poner para ellas, no solamente una capacidad virtual de sello iónico, sino muy posiblemente, implicaciones en el mantenimiento iónico de la endolinfa. En este sentido abogan nuestras imágenes, en las que observamos, como datos mas prominentes, dilataciones del intersticio en el caso de las células de Claudius (Fot. 122), así como un profuso laberinto basal en las células de la prominencia (Fots. 47, 47 det. A). A pesar de que en ocasiones estos hechos pueden ser muy prominentes (Fot. 102), el aspecto general del citoplasma de las células, asi como su forma, hacen pensar en un grado de alteración iónica siempre menor que en otras áreas superficiales de la escala media.

Las células del surco externo descritas primeramente por Shambaugh (1908) y sistematizadas por Duvall (1969), han sido motivo de discusión sobre sus posibilidades funcionales, asignándoseles desde una función puramente nutritiva, hasta una de eliminación de sustancias de desecho, pasando por la de poseer capacidad de excreción iónica. En este sentido, Merchan (1979) considera la posibilidad, a la vista de su morfología, y basándose esencialmente en el hallazgo de amplios canales intercelulares provistos de interdigitaciones con uniones de tipo comunicante, de que puedan tener una función parecida a la que asigna a las células interdetales; nuestras imágenes de esta zona no indican, en cambio, una alteración equiparable a la que observamos en aquel nivel, aunque se pudo observar como en aquella área algunos canales intercelulares de contornos más o menos lisos y de aspecto dilatado, aunque esta dilatación no es tan llamativa como la que observamos en las células interdetales. En cualquier caso, deberemos valorar en conjunto toda la pared externa de la escala media, dado que, en nuestras series experimentales, aparece siempre muy levemente afectada o indemne. Dentro de este mantenimiento morfológico general de la zona, la mejor parte sin duda la lleva la estria vascular ya que no hemos podido observar ninguna alteración morfológica significativa de una alteración de sus mecanismos de concentración iónica.

El análisis de este hecho parece indicar, en nuestra opinión, que existen dos áreas con diferente capacidad del

mantenimiento del equilibrio iónico. De una parte, la estria vascular, órgano principal en la función mencionada y de otra, estructuras como el limbo espiral y las células del surco externo o células de Deiters que por constituir mecanismos lentos y locales del mantenimiento de las linfas, parecen ser mucho mas sensibles que estas últimas estructuras. Pero no podemos dejar de pensar en la posibilidad de que estructuras de este área, con un evidente menor significado iónico, como son las células del surco externo o las de la prominencia espiral, no sufran alteración tan profunda como la observada en la región interna y órgano de Corti. La explicación de este hecho solo puede justificarse considerando el tejido en que se ven inmersas estas estructuras (corion externo). Como sabemos, el corion externo (Fot. 102) posee una gran cantidad de intersticio, profusamente vascularizado y con gran cantidad de células la mayoría en situación perivascular. Este tejido, hasta el momento de significado funcional desconocido, posee como se evidencia en nuestras imágenes (Fots. 102), unas células muy ricas en organoides que por medio de su particular disposición (formación de retículos perivasculares por medio de sus prolongaciones), podrian constituir el equivalente a una estria vascular pfodunda y difusa. En este sentido abogan las imágenes del comienzo de la estria donde puede observarse como las células de este tejido se continuan insensiblemente sobre la lámina de células densas de la estria vascular, previo empaquetamiento de sus digitaciones por medio de pequeños desmoso

mas (Fot. 47). Por otra parte, los vasos capilares situados a este nivel, poseen una pared endotelial de gran densidad electrónica rica en vesículas de micropinocitosis. Este hecho, inusual (Merchan, 1979), y que está de acuerdo con las posibilidades iónicas de este espacio, debe barajarse como un adyuvante para el aporte del sustrato iónico correcto a este compartimento, así como también a un sin duda vital mecanismo de drenaje del excedente iónico de la zona. En estos dos mismos sentidos, deberemos pensar en imágenes como las de la foto 81, donde se puede observar la formación de una bolsa líquida periendothelial (entre el pericitio y el endotelio), muy probablemente expresiva de linfa en vías de drenaje por la célula endotelial. Sea como fuere lo que si resulta un hecho llamativo es la íntima relación existente entre el grado de reactividad de los capilares del área y el aspecto morfológico de las células adyacentes. De este modo, áreas con vasos capilares sin signos evidentes de reacción de compensación del medio externo (pinocitosis, dilataciones perivasculares, etc.) muestran en sus áreas próximas (células interdetales, células del surco interno, etc.) visibles signos de hidrops intercelulares. Así pues, y en conclusión, en una secuencia lesional en la que las concentraciones iónicas intra y extracelulares parecen ser protagonistas, los vasos seguramente constituyen elementos de primer orden para la evolución de las alteraciones. Lógicamente todo lo mencionado hasta aquí sobre este punto deberá ser considerado como una hipótesis de trabajo

a desarrollar con técnicas mas específicas como puedan ser la aplicación de trazadores o marcadores isotópicos.

Para terminar de pasar revista a las estructuras que contornean la escala media, analizaremos las imágenes de la tercera pared (supero-externa). Como ya es conocido, desde Prazma (1968) y Vosteen (1961), la membrana de Reissner constituye una barrera iónica interpuesta entre la endolinfa de la escala media y perilinfa de la escala vestibular. Desde este punto de vista, debemos considerar dos posibilidades funcionales distintas para esta estructura, y así podemos entenderla como un sello iónico estático implicado unicamente en el aislamiento de los compartimentos iónicos diferentes, o como un elemento activo en el mantenimiento de los valores de la endolinfa. Muchos han sido los trabajos que se han realizado con el fin de esclarecer esta incognita. En este sentido Prazma (1969 a y b) postula la existencia de un doble transporte iónico y pasivo. Sus trabajos, basados en determinaciones de potencial antes y después del bloqueo químico con 2-4 dinitrofenol, así como mediante perfusión de la escala media con endolinfa artificial, le llevan a concluir que existe un transporte pasivo de iones a favor de gradiente, además del activo ya demostrado por otros autores. En contraste con la gran riqueza de estudios fisiológicos realizados sobre esta estructura, los estudios ultraestructurales son muy escasos, de tal modo que es difícil el tener una idea clara de la morfología normal de la membrana de Reissner en diferentes especies anima-

les. Los estudios de Ilberg y Vosteen (1960) determinan por primera vez la existencia de un "stop" al paso de partículas de torio (40 \AA) en el polo superficial de la cara bañada por endolinfa de esta estructura. Los estudios ultraestructurales posteriores (Merchan, 1979) confirman la existencia de zonas ocluyentes a este nivel. Este autor, basado en las características de las células de esta cara, así como en los complejos de unión antes citados, postula el hecho de que la porción activa de esta membrana corresponde exclusivamente a la lámina celular en contacto con la endolinfa.

Este último punto de vista, así como la posibilidad de un doble transporte, parece estar en armonía con las imágenes obtenidas en nuestras series experimentales. Es evidente que una desestructuración simétrica en ambas superficies de la lámina celular endolinfática tiende a apoyar una circulación en ambos sentidos. Por otra parte el aumento potencial de vesículas de micropinocitosis aboga en favor de un mecanismo lento de compensación iónica. Pero, sin lugar a dudas, el hecho más llamativo y que nos reafirma una vez más en la reversibilidad de las lesiones, es el mantenimiento de las características habituales de las uniones ocluyentes.

Finalmente queremos hacer un comentario general de un aspecto de la morfología de todas las células situadas junto a la escala media, como es el hallazgo de abundantes cuerpos lisosómicos que según hemos visto, es posible observar en las células interdentes, del surco interno, marginales, células

de los pilares y ciliadas, y finalmente también en la membrana de Reissner. Interpretar la razón por la que aparecen estos cuerpos de digestión enzimáticos resulta un tanto problemático, de no ser que aceptemos una capacidad macrofágica de todos los elementos citados y como es lógico detritus celulares, en un órgano en el que por otra parte no hemos encontrado células en necrobiosis. De este modo solo nos queda la posibilidad de pensar en un fenómeno de autodigestión de organelas afectadas por una alteración previa no necesariamente incompatible con la vida de la célula. Es decir, estos componentes podrían ser la expresión de una forma leve y compensada de adaptación celular.

RESUMEN Y CONCLUSIONES
=====

Se han estudiado con microscopía electrónica de transmisión y barrido las cocleas de 70 cobayas homocigóticas, de función auditiva normal a los que se había administrado Gentamicina (560 mg/kg.) o Kanamicina (2'1 gr./kg.) por vía intraperitoneal en dosis fraccionadas. Los animales se sacrificaron precozmente, a los 7, 15 y 30 días del comienzo de la intoxicación, con el fin de esclarecer las primeras lesiones inducidas por estos antibióticos y la evolución posterior de las mismas. En todos los casos se utilizaron grupos de 10 animales con el fin de descartar variaciones individuales, así como una rigurosa técnica electromicroscópica. Las conclusiones obtenidas de este protocolo de trabajo han sido las siguientes:

1) Las lesiones producidas por los dos antibióticos son cualitativamente equiparables y crono-dependientes, siendo más pronunciadas en aquellos animales que, por haberse sacrificado tardiamente, estuvieron mas tiempo expuestos a la acción de los tóxicos sobre las estructuras cocleares.

2) Las lesiones son radicalmente distintas en los elementos sensoriales respecto al resto de los componentes de la rampa media, que se encontraron afectados en su totalidad aunque en distinto grado. Las únicas estructuras que no mostraron en ningún momento alteraciones valorables fueron el componente fibrilar de la membrana basilar y, significativamente, la estria vascular.

3) Las células ciliadas muestran un patrón de lesión con topografía altamente específica, siendo las alteraciones de intensidad decreciente desde el apex a la base y desde la tercera a la primera hilera de células ciliadas externas. En cualquier caso, las lesiones son siempre cualitativamente iguales aunque varien en intensidad.

4) Las alteraciones predominantes en las células ciliadas son distintas en los cilios, en la cutícula, en la región subcuticular y en el resto de la célula.

a) Los cilios pueden presentar pérdida de rigidez, fusión y tumefacción, con aparición de formas gigantes. Igualmente se encuentran células con

disminución del número de cilios e incluso con desaparición total del penacho ciliar.

- b) Los cambios de la cutícula se concretan en pérdida de densidad electrónica y de grosor, así como lisis total o parcial del material anhisto, que puede aparecer disperso en el citoplasma o en trance de expulsión al espacio endolinfático. En estos casos de abombamiento del polo mundial, este suele estar tachonado por microvellosidades.
- c) En la zona subcuticular se registra un notable incremento del aparato de Golgi y de los lisosomas secundarios, que parecen concentrarse en las zonas donde la cutícula está más alterada.
- d) El resto de la célula muestra un perfil irregular y un extraordinario aumento del sistema vacuolar en conjunto (retículo endoplasmico libre, membranas fenestradas, cuerpos de Hensen, etc.), con imágenes que reproducen el cuadro de la degeneración hidrópica de otros órganos. No se han encontrado alteraciones significativas del núcleo ni de los ribosomas, así como tampoco del polo sináptico.

5) Después de un análisis bibliográfico profundo sobre los mecanismos de ototoxicidad postulados para estos antibióticos, y tras compararlos con las imágenes morfológicas sistematizadas en otros territorios para dichos mecanismos, se concluye que las manifestaciones tóxicas

iniciales descritas en el epígrafe anterior solo pueden comprenderse admitiendo que, al igual que en otros órganos, los antibióticos aminoglucósidos tienen una acción inicial sobre la MC. No existen datos morfológicos ni funcionales que sustenten solidamente una interferencia primitiva en el metabolismo proteico o energético.

La alteración de los mecanismos de intercambio hídrico de la membrana plasmática producen, en la generalidad de las células, un cuadro ultraestructural superponible al descrito en 4d., con penetración masiva de agua y alteración de la homeostasis citoplásmica. Esta hidratación de la matriz citoplasmica puede facilmente relacionarse con las alteraciones de la cutícula y de los cilios (4a, 4b), ya que el mantenimiento de la rigidez de estas estructuras depende del estado fisico-químico del hialoplasma a este nivel. A su vez, el incremento de lisosomas secundarios se considera como un proceso de remodelación celular subsiguiente a la alteración del material anhisto de la cutícula y de los cilios.

Esta interpretación patogénica atañe a las lesiones que aparecen en los momentos iniciales y empleando dosis no masivamente toxicas, y no existen datos anatómicos que permitan afirmar su irreversibilidad ni que excluyan un segundo mecanismo lesional en etapas mas avanzadas, i.e., cuando la célula ciliada ha superado la agresión inicial sobre su membrana.

6) Las alteraciones de los restantes componentes de la rampa media, no presentan una distribución topográfica tan precisa como la de las células ciliadas (epígrafe 3), apareciendo homogéneamente distribuidas por todo el caracol, pero mostrando también mayor intensidad en los animales más expuestos al tóxico. Las únicas lesiones transitorias encontradas consisten en incremento del sistema vacuolar en las células del surco interno en los primeros animales sacrificados.

7) Entre las alteraciones más significativas de las células no sensoriales se encuentra el aumento del sistema vacuolar de los elementos de la membrana de Reissner y de las células de Deiters, así como la dilatación de los canales intercelulares de las células de la prominencia espiral, células del surco interno y células interdenciales. Concomitantemente, los vasos, que habitualmente muestran escasa o nula endocitosis, muestran una extraordinaria exaltación de este fenómeno. El espacio intercelular, en especial en el limbo espiral interno, está sumamente reducido a expensas tanto del componente fibrilar como de la sustancia fundamental.

8) Las alteraciones descritas en el epígrafe anterior se consideran secundarias a la alteración de la endolinfa inducida por el tóxico en sí mismo o por la interferencia que provoca en el metabolismo iónico de las células ciliadas. Esta interpretación no está en contradicción con la

carencia de alteraciones en la estria vascular, ya que no existen datos que permitan suponer que la función de esta estructura en el mantenimiento de la endolinfa sea equiparable a las que, en este aspecto, tengan las células enumeradas en el apartado anterior.

B I B L I O G R A F I A
=====

- AFZELIUS, L.E. y AURSNEs, L. (1979). - " Structural changes in the organ of Corti of the guinea pig after obstruction of the arterial blood flow to the inner ear ". Acta Otolaryngol. 88:183.
- ALFORD, B.R.; SHAVER, E.F.; ROSENBERG, J.J.; GUILDFORD, F.R. (1965). - " Physiologic and Histopathologic effects of micro-embolism of the internal auditory artery ". Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. 74:723.
- ANGELBORG, C.; ENGSTROM, H. (1973). - " Supporting elements in the organ of Corti ". Acta Otolaryngol. Suppl. 301:49.
- ANGELBORG, C. y ENGSTROM, B. (1974). - " The tympanic covering layer ". Act. Otolaryng. Suppl. 319.
- ANNIKO, M. (1976). - " The cytochleogram in atoxyl-treated guinea pigs ". Acta Otolaryngol. 82:70-81.
- ANNIKO, M. y WERSALL, J. (1975). - " Damage to the stria vascularis in the guinea pig cochlea by acute atoxyl intoxication ". Acta Otolaryngol. (Stockh.) 80, 167.
- ARAN, J.M. (1973). - " Analyse des fonctionnement global du nerf auditif ". These pour le Doctorat es Sciences, Université de Bordeaux I, n°335.
- AXELSSON, A. y VERTES, D. (1978). - " Vascular histology of the guinea pig cochlea ". Acta Otolaryngol. 85:198.
- BAGGER-SJOBACK, D. (1976). - " Toxic effects of Gentamicin on the basilar papilla in the lizard *Calotes versicolor* ". Acta Otolaryngol. (Stockh.) 81, 55.

- BAGGER-SJOBACK D, y WERSALL, J. (1978).-" Gentamicin-induced mitochondrial damage in inner ear sensory cells of lizard *calotes versicolor* ". Acta Otolaryngol. 80:35-51.
- BARBER : y WATERWORTH (1966).- Britis Medical Journal. 1, 203-205.
- BECK, CHL. y KRAHL, D. (1962).-" Experimentelle und feingewebliche untersuchungen uber die ototoxizitat von Kanamycin ". Arch. Ohr. Nas. Kehlkoppheilk. 179:594-610.
- BEKESY, G.V. (1941).-" Über die elastizitat der schneckenrennwand des ohres ". Akust. Zeits. 6:265.
- BEKESY, G. (1952).-" Resting potentials inside the cochlear partitions ". J. Acoust. Soc. Amer. 24:72.
- BEKESY, G.V. (1960).-" Experiments in hearing ". Mc Graw-Hill
- BELANGER, L.F. (1953).-" Autoradiographic detection of S^{35} in the membranes of inner ear of the rat ". Science, 118, 520.
- BENITEZ, J.T.; SCHUKNECHT, M.F. y BRANDENBURG, J.M. (1962).-" Pathologic changes in human ear after kanamycin ". Arch. Otolaryng. (Chicago), 75:192-197.
- BENVENISTE, R. y DAVIES, J. (1973).-" Structure-activity relationship among the aminoglycoside antibiotics: role of hidroxil and amino groups ". Antomicrobial Agents and Chemotherapy. p. 402-409. vol. 4, n°4.
- BERG, (1949).-" The toxic effects of streptomycin on the eight cranial nerve ". Annals of Oto-Rhino-Laryng. 58-448-456.

- BERNABEI, L.; DIBRINO, M.; CONSALVO, P.; PIERANGELI, C.E. (1967).
" Contributio allo studio del danno laberintico sperimentale da Gentamicina ". Int. di Clinica Otorrinolaringologica dell'Universita di Siena. Prof.C.E. Pierangelli.
Att. Accad.Fisiocr. 16, 1221-1249.
- BERNHARD, W. (1971). - " Drug-induced changes in the interphase nucleus ". Advances in Cytopharmacology, Vol. 1: First International Symposium on Cell Biology and Cytopharmacology. Raven Press, New York.
- BLACK, J.; CALESNICK, B.; WILLIAMS, D. WEINSTEIN, H.J. -
(1963). - Antimicrob. Ag. Chemother. p.138.
- BOHNE, B.A.; WARD, P.H.; FERNANDEZ, C. (1976). - " Irreversible inner ear damage from rock music ". Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Otolaryngol. 82:50-59.
- BORGHESAN, E. (1950). - " Zona vascula-epithelial della benderella di coniglio considerata probabile sorgente di perilinfa ". Att. Clin. Otorin. Univ. Palermo, 3:31.
- BORGHESAN, E. (1957). - " Modality of the cochlear humoral circulation ". The Laryngoscope, 67:1266.
- BOSHER, S.K. (1970). - " The possible importance of the labyrinthine fluids in the pathogenesis of sensorineural deafness " Ciba Foundation Symposium. Pg. 199-204. London: Churchill.
- BREDBERG, G. (1968). - " Cellular pattern and nerve supply of the human organ of Corti ". Acta Otolaryng. (Stockh.) Suppl. 236.

- BREDBURG, G.; ADES, H. ; ENGSTROM, H. (1973). - " Microscopy of the normal and Pathologically altered organ of Corti ". Acta Otolaryngol., Suppl. 301, 3.
- BROWN, R.D.; DAIGNEAULT, E.A. (1973). - " Neomycin: Ototoxicity at the cochlear efferents ". Acta Otolaryng. 76:128-135.
- BRUMMETT, E.; HIMES, D.; SAINE, B.; VERNON, J. (1972). - " A comparative study of the ototoxicity of tobramycin and gentamicin ". Arch. Otolaryng. Vol. 96.
- BRUMMET, R.E.; TRAYNOR, J.; BROWN, R.; HIMES, D. (1975). - " Cochlear damage resulting from Kanamycin and furosemide ". Acta Otolaryng. 80:86-92.
- BRUMMETT, R.; SMITH, C.A.; VERNON, J.; CAMERON, S.; RICHTER, R. (1977). - " The delayed effects of ethacrynic acid on the stria vascularis of the guinea pig ". Acta Otolaryngol. 83: 98-112.
- BUSCH, H.; DESJARDINS, R.; GROGAN, D.; HIGASHI, K.; JACOB, S.T.; MURAMATSU, M.; RO, T.S.; STEELE, W.Y. (1966). - " Composition of nucleoli isolated from mammalian cells ". National Cancer Institute Monographs, 23:193.
- CALDWELL, J.R.; CLUFF, L.E. (1974). - " Adverse reactions to antimicrobial agents ". J.A.M.A., vol. 230 n°1.
- CAPPS, DUVALL, (1977). - " Ototoxicity olivo-cochlear bundle". The Laryngoscope. Vol. LXXXVII, n°7.p. 1.100.
- CATALANQ, G.; MADONIA, T.; CERESIA, G. (1961). - " Etudes sur l'action toxique de la kanamycine sur le VIII e paire ". Rev. Laryng. (Bordeaux), 82:853-875.

- CAUSSE, R. (1949).-" Action toxique vestibulaire et cochleaire de la streptomycine au point de vue experimental ".
Ann. Oto-Laryngol. 66:518.
- CIGES, QUESADA, GONZALEZ (1972).- Acta Otolaryngol. 73, 270.
- CITRON, L.; EXLEY, D.; HALLPIKE, C. (1956).-" Formation, circulation and chemical properties of the labyrinthine fluids"
Brit. Med. Bull. , 12:101.
- COPNER, J.; CARROLL, R.; BENITEZ, J.T.; MANFORD, T. (1971).-"Ototoxicity of topical gentamicyn in the cat ". The Journal of Infections Diseases. Vol. 124, Supplement December.
- CORTI, A. (1851).-" Recherches sur l'organe de l'ouïe des mammiferes. I partie. Limagon". Z. Wiss. Zool. 3:106.
- CHOU, J.T. (1963).-" Respiration of Reissner's membrane of the guinea pig ". J. Laryng. 77:374-380.
- CHOU, M.J.; FARDIG, O.B.; JOHNSON, D.L.; PALERMITI, F.M.; SCHMITZ, H.; HOOPER, I.R. (1958).-" The chemistry of Kanamycin ".
Ann. N.Y. Acad. Sci. 76:27-30.
- CHRISTENSEN, E.; HERTZ, H.; RISKAER, N.; VRAA-JENSEN, G. (1953).
" Histochemical investigation in chronic streptomycin poisoning in guinea pigs ". Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. St. Louis, 60:343-349.
- DALLOS, P. (1975).- En TONER, E.-" The nervous system ". Raven Press.
- DEBAIN, J.; FREYSS, G.; POULAIN, H. (1969).-" Gentamycine et toxicité auriculaire ". Ann. Otolaryng. 86:584.

- DE VRIES, H. (1949). - " Struktur und lage der tektorialmembran in der schnecke, untersucht mit neuen hilfsmitteln". Acta Otolaryngol. 37:334.
- DYER, J.R. (1973). - " Aplicaciones de espectroscopia de absorción en compuestos orgánicos ". Ed. Prentice Hall International. Copyright.
- DARROUZET, J. (1963). - " Essais de protection de l'organe de Corti contre l'ototoxicité des antibiotiques ". Revue de Laryng. Otologie-Rhinologie, n°7-8. Jul-Ag.
- DARROUZET, J.; GUILHAUME, A. (1974). - " Ototoxicité de la Kanamycine au jour le jour ". (Etude Experimentale en M.E.). Revue de Laryng. Vol. 95, n°9-10.
- DARROUZET, J.; DE LIMA, B.; SOBRINHO, E., (1962). - " Oreille interne, Kanamycine et trauma tissue acoustique. Etude Experimentale ". Rev. Laryng. (Bordeaux), 83:781-806.
- DIANZANI, M.E. (1963). - " Lysosome changes in liver injury", en REUCK, A.U.S.; CAMERON, M.P. - " Ciba Foundation Symposium on Lysosome ". Churchill (Londres).
- DOHLMAN, G.F. (1971). - " The attachment of the cupulae, otolith and tectorial membranes to the sensory cell areas ". Acta Otolaryngol. 71:89.
- DUVALL, A.J. (1968). - " Ultrastructure of the lateral cochlear wall following intermixing of fluids ". Ann. Otol. 77:317-331.
- DUVALL, A. (1969). - " The ultrastructure of the external sulcus in the guinea pig cochlear duct". Laryngoscope, 79:1.

- DUVALL, A.J.; WERSALL, J. (1964). - " Site of action of streptomycin upon inner ear sensory cells ". Acta Otolaryngol. 57: 581.
- EDSTROM, A.; MATTSON, H. (1972). - " Fast axonal transport in vitro in the sciatic system of the frog ". J. Neurochem. 19:205.
- EICHLER, O. (1892). - "Abmandl. der Mat-Pho-Klasse der Koniglich Sachischem Gesell." der Wiss. 18:310.
- EL MOFTY y EL SEFARY (1966). - " The effect of ototoxic antibiotics on the oxygen uptake of the membranous cochlea ". Annals of O.R.L. 75:216.
- ENGSTROM, H. (1955). - " The structure of the basilar membrane ". Acta Oto-Rhino-Laryng. (Belg.) 9:531.
- ENGSTROM, H.; ADES, H.W.; ANDERSON, A. (1966). - " Structural pattern of the organ of the Corti ". Almquist and Wiksell, Stockholm, Sweden.
- ENGSTROM, H.; ADES, H.; BREDBERG, G. (1970). - " Normal structure of the organ of Corti and the effect of noise induced cochlear damage ", en WOLSTENHOLME, G.; KNIGHT, J. - " Sensorineural hearing loss. A Ciba Foundation Symposium ". Churchill.
- FARKASHIDY, J.; BLACK, R.G.; BRIANT, T.D.R. (1963). - " The effect of Kanamycin on the internal ear: An electrophysiological and electronmicroscopic study ". Laryngoscope (St.Louis), 73: 713-727.
- FEDERSPIEL, P. (1973). - " Morphologische Untersuchungen zur Ototoxizitat von Gentamycin und Tobramycin ". Arzneimittel-Forschung. Res. 23, n°12.

- FLOBERG, L.E.; HAMBERGER, C.A.; HYDEN, H. (1949). - "Inhibition of nucleic acid production in vestibular nerve cells by streptomycin ". Acta Oto-Laryng. Stockh. (Suppl.) 75:36-52.
- FLOCK, M.; DUVALL, S. (1965). - " The kinocilium of the sensory cells in the inner ear and lateral line organ ". J. Cell. Biol. 51:1.
- FRIEDMANN, I.; DADSWELL, J.V.; BIRD, S. (1966). - " Electron microscopic studies of the neuroepithelium of the inner ear in guinea pigs treated with neomycin ". J. Path. Bact. 92: 415.
- FRIEDMANN, I.; BIRD, S. (1961). - " The effect of ototoxic antibiotic and of penicillin on the sensory areas of the isolated fowl embryo otocyst in organ cultures: An electron microscopic study ". J. Path. Bact. 81:81.
- FROST, J.O.; DALY, J.F.; HAWKINS, J.E. Jr. (1959). - " The ototoxicity of Kanamycin in man ". Antibiot. Ann. 700.
- GIL-LOYZAGA, P.; MERCHAN, J.; MERCHAN, M.; LUDEÑA, M.D.; POBLATE, E.G. (1979). - " Estructura del órgano de Corti (M.E. de Transmisión y de Barrido). III. Limbo espiral ". I Congreso Nacional de Histología, Zaragoza, 73.
- GONSETTE, R. (1972). - " Incidence clinique des troubles de la perméabilité capillaire cérébrale ". Masson (Paris).
- GONZALEZ, G.; MILLER, N.; WASILEWSKI, V. (1972). - " Progression neuro-ototoxicity of Kanamycin ". Annals of Otol., 81, nº1, 127.

- HAMILTON, D. (1967). - " Perilymphatic fibrocytes in the vestibule of the inner ear ". Anat. Rec. 157:627.
- HAWKINS, J.E. Jr. (1959). - " The ototoxicity of Kanamycin ". Ann. Otol., 68:698.
- HAWKINS, J.E. (1973). - " Ototoxic mechanisms. A working hypothesis ". Audiology, 12:383.
- HAWKINS, J.E. Jr. (1973). - " Comparative otopathology: Age, noise and ototoxic drugs ". Adv. Otorhinolaryngol, 20:125.
- HAWKINS, J.E. Jr.; RAHWAY, N.J.; LURIE, H. (1952). - " The ototoxicity of Streptomycin ". Ann. Otol., 61:789.
- HAWKINS, J.E.; LURIE, M.H. (1953). - " The ototoxicity of dihydrostreptomycin and neomycin in the cat ". Ann. Otol. 62:1128.
- HAWKINS, J.E. Jr.; ENGSTROM, H. (1964). - " Effect of Kanamycin on cochlear cytoarchitecture ". Acta Otolaryng. (Stockholm) Suppl. 188, 100.
- HAWKINS, J.E. Jr.; BEGER, V.; ARAU, J.M. (1967). - " Antibiotic insults to Corti's organ". En A.B. GRAHAM (ed.) " Sensorineural hearing processes and disorders ". Little, Brown, Boston.
- HAWKINS, J.E., Jr.; JOHNSON, L.G. (1968). - " Light microscopic observations of the inner ear in man and honke ". Ann. Otol. 77, 608.
- HAWKINS, J.E., Jr.; JOHNSON, L.G.; ARAN, J.M. (1969). - " Comparative test of Gentamycin ototoxicity ". J. Infect. Dis. 119, 485.

- HAWKINS, J.E., JR.; JOHNSON, L.G.; PRESTON, R.E. (1972). -
Laryngoscope, 82, 1091.
- HEMHOLTZ, M. (1868). - " Die lehre von den tonempfindungen als
physiologische grundlage der theorie der musik ". F.
Vieweg. Braunschweig.
- HINSHAW, M.G.; FELDMAN, W.H. (1945). - " Streptomycin in the
treatment of clinical tuberculosis: A preliminary report ".
Mayo Clin. Proc. 20, 313.
- HOESSLI, H. (1912). - " Weitere experimentelle studien uber
die akustische schadigung des saugtierlabyrinths ". Z.
Ohrenheilk, 64, 101.
- HOLZ, E.; STRANGE, G.; SODA, T.; BECK, C. (1968). - " Decrease of
ototoxicity of Streptomycin sulphate ". (Preliminary Commu-
nication of Animal Experiments). Arch. Otolaryn. 87.
- HUNTER-DUVAR, I.M. (1978). - " Electron microscopic assessment
of the cochlea ". Acta Oto-Laryng. Suppl. 351.
- HUSCKE, E. (1825). - " Bemerkungen zur anatomie des sinnesor-
gane und des kinnladen ". Tod. XI. Oken's Isis. 18:1101.
- ILBERG, C.; VOSTEEN, K. (1960). - " Permeability of inner ear
membranes ". Acta Otolaryngol., 67:165.
- ILBERG, C.; SPOENDLIN, H.; ARNOLD, W. (1971). - " Autoradiographi-
cal distribution of locally applied dihydrostreptomycin in
the inner ear ". Act. Otolaryng. 71:159-165.

- INUMA,T.; MIZUKOSHI,O.; DALY,J.F. (1967).-" Possible effects of various ototoxic drugs upon the ATP hydrolyzing system in the stria vascularis and spiral ligament of the guinea pig". The Laryngoscope Vol. 77, n°2,159.
- ISHII,T.; ISHII,D.; BALOGH,K. (1968).-" Lysosomal enzymes in the inner ears of Kanamycin-treated guinea pigs". Acta Oto-Laryng. 65: 449-458.
- ISHIYAMA,E.; KEELS,E.; WEIBEL,S. (1970).-" New anatomical aspects of the vasculo-epithelial zone of the spiral limbus in mammals ". Acta Otolaryngol. 70:319.
- IURATO,S. (1960).-" Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. I. The tectorial membrane ". Z. Zellforsch. 52:105.
- IURATO,S. (1961).-" Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. II. The epithelium of Corti's organ ". Z. Zellforsch. Mikro-Anat. 53:259.
- IURATO,S. (1962).-" Submicroscopic structure of the membranous labyrinth.III. The supporting structures of Corti's organ, basilar membrane, limbus spiralis and spiral ligament". Z. Zellforsch. U. Mikroskop. Anat. 56, 40.
- JAO,R.L.; JACKSON,G.G. (1964).-" Gentamycin sulfate new antibiotic against Gram-negative bacilli ". J.A.M.A. Vol.189, n°11.
- JARSTEDT,J.; BAGGER-SJOBACK,D. (1977).-" Gentamicin-induced changes in RNA content in sensory and ganglionic cells in the hearing organ of the lizard *Calotes versicolor*". Acta Otolaryngol. 84:361-369.

- JOHNSON, L.G.; HAWKINS, J.R., Jr. (1972).- Laryngoscope, 82: 1105.
- JUIZ, J.M.; MERCHAN, M.; MERCHAN, J.; LUDENA, M.D.; POCH, J. (1979).- " Estructura del órgano de Corti (M.E. de Transmisión y de Barrido. II. Membrana de Reissner). I Congreso Nacional de Histología, Zaragoza, 71.
- KANCKO, Y.; NAKAGAWA, T.; TANAKA, K. (1970).- " Reissner's membrane after Kanamycin administration ". Acta Otolaryng. Vol. 92:457.
- KELLERMALS, B.; ENGSTROM, H.; ADES, H.W. (1967).- " Die morphologie des ganglion spirale cochlear ". Acta Otolaryng. Suppl. 226.
- KIANG, N.V.; MOXON, R.A.; LEVINE, R.A. (1970).- " Auditory-nerve activity in cats with normal and abnormal cochleas". Sensorineural Hearing Loss. A Ciba Foundation Symposium.
- KIMURA, R.S. (1965).- " Hairs of the cochlear sensory cells and their attachment to the tectorial membrane ". Acta Otolaryngol., 61:55.
- KIMURA, R. (1975).- Int. Rev. Cytol. 42:173.
- KLEINFELD, R.G. (1966).- " Altered patterns of RNA metabolism in liver cells following partial hepatectomy and thioacetamide treatment ". National Cancer Institute Monographs, 23: 369.
- KOHONEN, A. (1965).- " Effect of some drugs upon the pattern and innervation of cochlear sensory cells in the guinea pig". Acta Otolaryngol. Suppl. 208.

- KOIDE, Y.; MATA, A.; HANDO, R. (1966). - " Vulnerability of the organ of Corti in poisoning ". Acta Otolaryng., 61:332.
- KOLLICKER, A. (1825). - " Makroskopische anatomie oder Gewebelehre des menschen ". Engelmann.
- KROCHMALSKA, E. (1966). - " Przepuszczalność bariery krwi-perylimfy w stosunku do cząsteczki ortofosforanu sodu znakowanego P-32 ". Otolaryng. Pol. 20:393.
- LAMB, A.J.; CLARK-WALKER, G.D.; LINNANE, A.W. (1978). - " Bacterial versus eukaryotic protein synthesis ". Biochem. Biophys. Acta, 167:415.
- LAWRENCE, H. (1964). - " Endolymph-perilymph diffusion after barrier breakdown". Arch. Otolaryng. 83:406.
- LAWRENCE, M. (1966 a). - " Histological evidence for localized radial flow of endolymph." Arch. Otolaryng. 83:406-412.
- LAWRENCE, M. (1966) - " Effects of interference with terminal blood supply on the organ of Corti ". Laryngoscope, 76: 131.
- LIM, D.J. (1976). - " Ultrastructural cochlear changes following acoustic hyperstimulation and ototoxicity ". Ann. Otol. 85:740.
- LINDEMAN, H.; ADES, H.; BREDBERG, C.; ENGSTROM, H. (1971). - " The sensory hairs and the tectorial membrane in the development of the cat's organ of Corti". Acta Otolaryngol. 72:229.
- LYNDSEY, J.R.; PROCTOR, L.R.; WOK, W.P. (1960). - " Histopathologic inner ear changes in deafness due to neomycin in a human". Laryngoscope (St.Louis), 70:382-392.

- LITTER, M. (1973). - Compendio de Farmacologia, 4° Ed. pag. 1.487. El Ateneo.
- LORENZO-VELAZQUEZ, B. (1979). - " Farmacologia y su proyección a la clinica ". 14° ed. Otero.
- LUDENA, M.D.; MERCHAN, M.; MERCHAN, J. (1980 a). - " Contacts between interdental cells and inner sulcus cells in the guinea pig inner ear ". Act. Anat. (en prensa).
- LUDENA, M.D.; MERCHAN, M.; MERCHAN, J. (1980). - " Ultraestructura de las células marginales del receptor acústico del cobaya ". Morf. Nor. y Patl. (en prensa).
- LUNDQUIST, P.G.; WERSALL, J. (1965). - " Kanamycin induced changes in cochlear hair cells of the guinea pig ". Z. Zellforsch. Abt. Histochem. 72:543-561.
- LUNDQUIST, P.; WERSALL, J. (1967). - " The ototoxic effect of Gentamicin. An electron microscopic study ". Gentamicin First International Symposium , p.p. 26-46. Paris (Schwabe, Basel).
- MACHEN, T. et al. (1972). - " Structure and function of intercellular junction ". Cit. STAHELIN, L. (1974). Int. Rev. Cf. Cytol. 39:191.
- Mc GEE, T.M.; WEBSTER, J.; WILLIAMS, M. (1969). - " Histological and functional changes in the ears of the cats after subcutaneous administration of Gentamicina ". J. Infect. Dis. 119:432.

- MERCHAN.M.A. (1975).-" Ultraestructura del órgano de Corti y de sus areas proximas ". Tesis Doctoral.
- MERCHAN,J.A. (1980).-" Biología general de la membrana celular. III. Aspectos funcionales ". Morf. Norm. Pat. Secc. A (en prensa).
- MERCHAN,J.; MERCHAN,M.; LUDENA,M.D.; COLOM,J.I.; POBLETE, E. G. (1979).-" Estructura del órgano de Corti (M.E. de Transmisión y de Barrido). VII: Celulas sensoriales ". I Congreso Nacional de Histología, Zaragoza, 75.
- MERCHAN,M.; MERCHAN,J.; LUDENA,M.D.; POBLETE,E.G. (1979).-" Estructura del organo de Corti (M.E. de Transmisión y de Barrido) X: Bases morfológicas de los espacios iónicos". I Congreso Nacional de Histología, Zaragoza, 77.
- MERCHAN,M.; MERCHAN,J.; LUDENA,M.D. (1980 a).-" Morphology of Hensen's cells ". J. of Anatomy (en prensa).
- MERCHAN,J.; MERCHAN,M.; LUDENA,M.D. (1980 b).-" Ultrastructure of the interdental cells of the guinea pig's cochlea". Cell and Tiss. Res. (en prensa).
- MERCHAN,M.; MERCHAN,J.; LUDENA,M.D. (1980 c).-" Ultraestructura del limbo espiral de la coclea del cobaya ". Morf. Norm. y Pat. (en prensa).
- MILANESI,G.; CIFERRI,O. (1966).-" Studies on the mechanism of action of Gentamicin. Effect on protein synthesis in cell extracts of Echerichia Coli ". Biochemistry,5:12.

- MISRAHY, G.A.; SPRADLEY, J.F.; DZINOVIC, S. (1961). - " Effects of intense sound, hypoxia and Kanamycin on the permeability of cochlear partition ". Ann. Otol. 70:572-581.
- MIZUKOSHI, O.; KONISHI, T.; NAKAMURA, F. (1957). - " Physico-chemical process in the hair cells of the organ of Corti ". Ann. Otol. Rhinol. Laryngol. , St. Louis, 65:106-126.
- MIZUKOSHI, O.; DALY, J.F. (1967). - " Oxygen consumption in normal and Kanamycin damage cochleae ". Acta Otolaryn. 64:45.
- MOLITOR, H.; GRAESSLE, O.E.; KUNA, S.; MUSHETT, C.W.; SILBER, R. M. (1945). - " Some toxicological and pharmacological properties of streptomycin ". J. Pharmacol. and Exper. Therap. 86: 151.
- MORRE, D.J.; KEEMAN, T.W.; MOLLENHANER, H.H. (1971). - " Golgi apparatus function in membrane transformation and product compartmentalization: Studies with cell fractions isolated from rat liver ". Adv. in Cytopharmacology , Vol. I. First International Symposium on Cell Biology and Cytopharmacology. Raven Press , New York.
- MUSEBECK, K. (1964). - " Histochemische untersuchungen zur ototoxizitat des Streptomycins ". Ann. Univ. Sarav. 11: 155-270.
- NAKAI, Y. (1977). - " Combined effect of 3', 4'- Dideoxykanamycin B and potent diuretics on the cochlea (A scanning and transmission electron microscopic evaluation)". The Laryngoscope, LXXXVII, 9.

- NAKAJIMA, R.; WATANAKE, Y.; ODA, R. (1969).-" Experimental study on the kinetics of Kanamycin in the labyrinthine fluids ". J. Otolaryng. Jap. 72:748-751.
- NAKAMURA, F. (1957).-" Electrophysiological and cytochemical study on ototoxicity on dihydrostreptomycin ". The Ann. of Otol. Rhinol. Laryng. LXVI, 4.
- OSTYN, F.; TYBERGHEIN, J. (1968).-" Influence of some ototoxic antibiotics on the inner ear of the guinea pig ". Acta Otolaryng. Suppl. 234.
- PEREZ-TAMAYO, R. (1975).-" Patología molecular, subcelular y celular ". Ed. Pren. Med. Mex.
- PESTKA, S. (1971).-" Inhibitors of ribosome functions ". Ann. Rev. Biochem., 40:697.
- PITTINGER, C.; ADAMSON, R. (1972).-" Antibiotic blockade of neuromuscular function ". Ann. Rev. Pharm., 12, 169.
- PRAZMA, J. (1968).-" Active ion transport from the scala vestibuli into the scala media ". Acta Otolaryng. 67:631-638.
- PRAZMA, J. (1969 a).-" Active ion transport from the scala vestibuli into the scala media ". Acta Otolaryng. 67:631.
- PRAZMA, J. (1969 b).-" Passive ion transport through the Reissner membrane ". Acta Otolaryng. 68:53.
- RAUCH, S.; SCHNIEDER, E.A.; SCHLINDLER, R. (1963).-" Arguments for the permeability of Reissner's membrane ". Laryngoscope, 73:135-147.

- RAUCH, S.; RAUCH, I. (1974). - " Physico-chemical properties of the inner ear. Specially ionic transport ", en KEIDEC, W.D. NEFF, W.D. - " Handbook of sensory physiology (Vol.VII). " Springer (Nueva York).
- REDDY, J.B.; IGARASHI, M. (1962). - " Changes produced by Kanamycin ". Arch. Otolaryng. (Chicago), 70:145-150.
- REISSNER, E. (1851). - " De auris internae formations ". Cit. VINNIKOV y TITOVA, 1964.
- RISKAER, N.; CHRISTENSEN, E.; PETERSEN, P.V.; WEIDMANN, H. (1956). - " The ototoxicity of Neomycin ". Acta Otolaryng. 46:137.
- ROBSON, J.H.; SULLIVAN, F.M. (1963). - " Antituberculous drugs ". Pharmacol, Rev. 15:169.
- RODRIGUEZ-ECHANDIA, E.; BURGOS, M. (1965). - " The fine structure of the stria vascularis of the guinea pig inner ear ". Zeitsh.Zell. 67:600.
- ROSS, M. (1978). - " Glycogen accumulation in Reissner's membrane following chemical sympathectomy with 6-hydroxydopamine ". Acta Otolaryng. (Stockh.) 86:314.
- RUEDI, L.; CRAF, L.; TSCHIRRE, B. (1953). - " Vorlaufige mitteilung uber die toxische wirkung von neomycin auf das gehororgan des meerschweinchens ". Med.Wsch., 83:951.
- RUSSELL, N.J.; FOX, K.E.; BRUMMETT, R.E. (1979). - " Ototoxic effect of the interaction between Kanamycin and etacrynic acid ". Acta Otolaryngol., 88:369.

- SATO, H.; DALY, J. (1971). - " Quantitative analysis of acid muco-polysaccharides in the normal and Kanamycin intoxicated cochlea ". Act. Otolaryng. 71:22-26.
- SANTI, P.; DUVAL, J. (1979). - " Morphological alteration of the stria vascularis after administration of the diuretic bohetanida ". Act. Otolaryng. 88:1-12.
- SATALOFF, J.; MENDUKE, H. (1969). - " Kanamycin ototoxicity in healthy man ". Arch. Otolaryng. (Chicago). 80:413-417.
- SATO, Y.; MIZUKOSHI, O.; DALY, J. (1969). - " Microrespirometry of the membranous cochlea and ototoxicity in vitro ". Ann. of O.R.L. 78, n: 6 :1201-1208.
- SCHACHT, J. (1974). - " Interaction of neomycin with phosphonositide metabolism in guinea pig inner ear and brain tissues ". Ann. Otol. Rhinol. Laryng. 83:613-618.
- SCHUKNECHT, M. (1953). - " Lesions of the organ of Corti ". Trans. Amer. Acad. Ophthalm. Otolaryng. 37:366.
- SHAMBAUGH, G.E. (1908). - " On the structure and function of the epithelium in the sulcus spiralis externus ". Arch. Otol. 37:538.
- SHAMBAUGH, G.E. (1928). - " Cytology of the inner ear cowdry's cytol ". (Hoeber, P. Inc.) New York. vol. 2.
- SIEBENMANN, F. (1894). - " Die blutgefasse in laberynth des menschlichen ohren bergman".
- SIMARD, R. (1966). - " Specific nuclear and nucleolar fine structural lesions induced by proflavin and similary acting antimetabolites in tissue culture ". Cancer Research, 26:2316.

- SIMARD, R.; BERNMARD, W. (1966). - " Le phénomène de la segregation nucleolaire, specificité d'action de certains anti-metabolites ". Inter.J. Can. 1:463.
- SMITH, C. (1957). - " Structure of the stria vascularis and the spiral prominence ". Ann. Otol. 66:521.
- SMUCKLER, E.A. (1968). - " Cellular adenosine triphosphate levels in liver and kidneys during CCL-4 intoxication ". Lab. Invest. 19:218.
- SMUCKLER, E.A.; ARCASOY, M. (1969). - " Structural and functional changes of the endoplasmic reticulum of hepatic parenchymal cells ". Int. Rev. Exp. Path. 7:305.
- SODA, T.; HOLZ, E.; STANGÉ, G. (1967). - " Die otoxizität von gentamycin sulfato electrophysiologische und histologische ergebnisse ". Zeitschr. Für Hals.Nas. Kehl. (Stuttgart). 187:824-827.
- SPOENDLIN, H. (1966). - " Zur ototoxizität der streptomyzins ". Practica O.R.L. 28:305-372.
- SPOENDLIN, H. (1957). - " Elektronenmikroskopische untersuchungen am Corti'schen organ des meerschweinchens ". Pract. Oto. 19:192.
- SPOENDLIN, H. (1968). - " Ultrastructure and peripheral innervation patterns of the receptor in relation to the first coding of the acoustic message ", en "Hearing mechanisms in vertebrates ". Reuck y Knicht. (Churchill,) .p.p.89.

- SPOENDLIN, H. (1970).-" Auditory, vestibular, olfactory and gustatory organs ", en BISCHOFF,A.-" Ultrastructure of the peripheral nervous system and sense organs ". Thieme.
- SPOENDLIN,H. (1973).-" The innervation of the cochlear receptor ", en:" Basic mechanisms in hearing ". Moller,A. Acad. Press.
- SPOENDLIN,H. (1979).-" Neural connections of the outer hair cell system ". Act. Otolaryngol. 87:381.
- STUPP,H.; RAUCH,S.; SOUS,H.; BRUN,J.; LAGLER,F. (1967).-" Kanamycin dosage and levels in ear on other organs ". Arch. Otolaryn. 86:515-512.
- SUGAR,S.; ENGSTROM,H.; STAHL,E,J. (1972).-" Stria vascularis" Act. Otol. Suppl. 301.
- SVOBODA,D.; SOGA,J. (1966).-" Early effects of pyrrolizidine alkaloids on the fine structure of rat liver cells ". Amer.J. Pathol. 48:347.
- SVOBODA,D.; GRADY,H.; HIGGINSON,J. (1966).-" Aflatoxin B₁ injury in rat and monkey liver ". Amer. J. Path. 49:1023.
- SYMONDS,J. (1978).-" Aminoglycoside ototoxicity ". J. Antmic. Chemot. 4:199.
- TAKAHASHI,T.; KIMURA,R. (1970).-" The ultrastructure of the spiral ligament in the rhesus monkey ". Act. Otolaryng. 69:46.

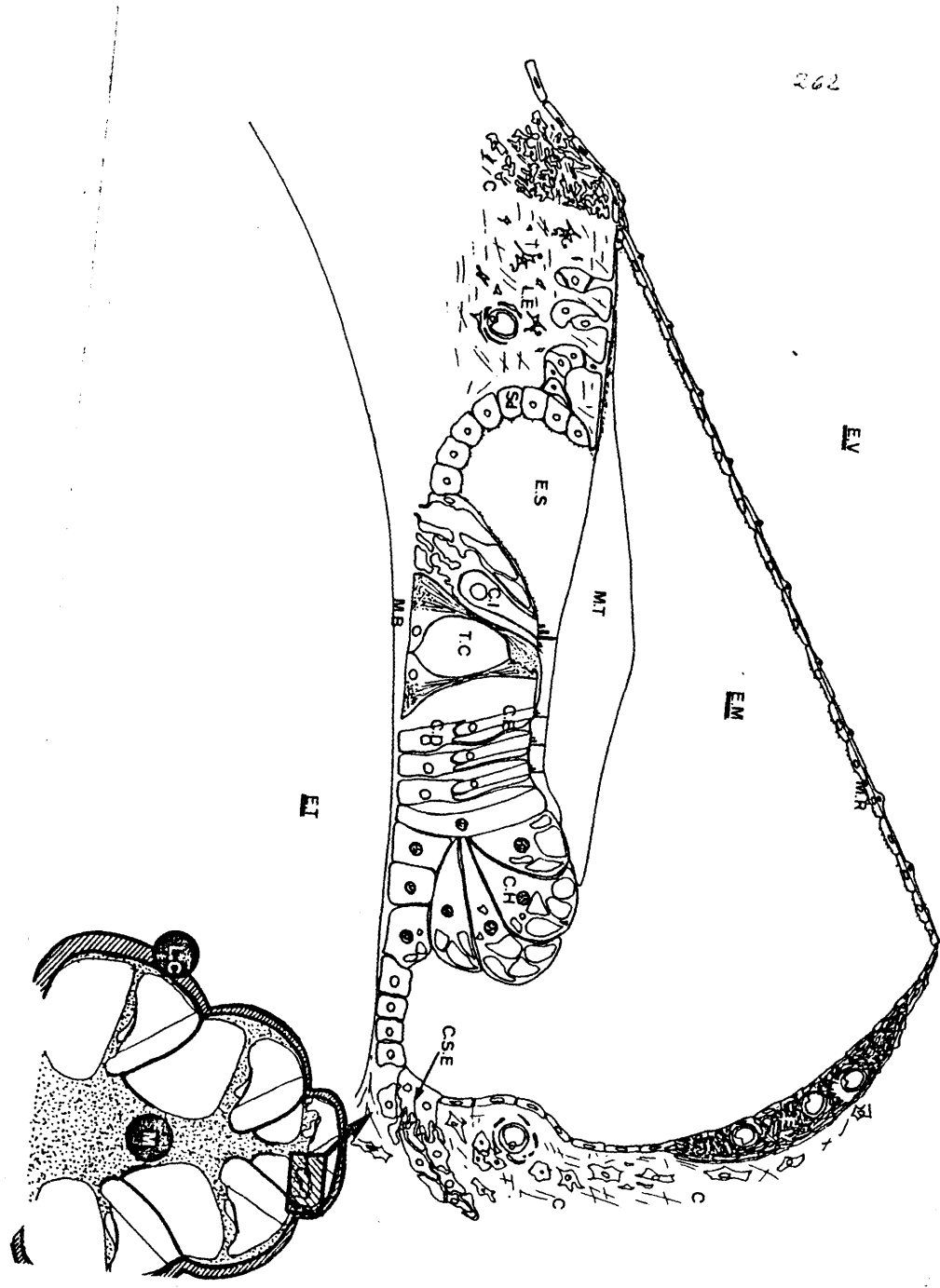
- TANAKA, T.; KOSAKA, N.; TAGUCHI, T.; AOKI, T.; TAKAHARA, S. (1973). - " en " Scanning electron microscopy ". Proceedings of the Workshop of Scanning Electron Microscopy in Pathology. Chicago-Illinois. "
- THEOPOLD, H. (1977). - " Comparative surface studies of ototoxic effects of various aminoglycoside antibiotics on the organ of Corti in the guinea pig ". Act. Otol. 84.
- TOYODA, Y.; SAITO, H.; MATSUKA, H.; TAKENAKA, H.; OSHIMA, W.; MIZUROSHI, O. (1977). - Quantitative analysis of Kanamycin ototoxicosis ". Act. Otolaryn. 84:202-212.
- TOYODA, Y.; TACHIBANA, M. (1978). - " Tissue levels of Kanamycin in correlation with oto and nephrotoxicity ". Act. Otolaryn. 80:9-14.
- TRUMP, B.F.; GOLDBLATT, P.J.; STOWELL, R.E. (1965). - " Studies on necrosis of mouse liver in vitro. Ultrastructural alterations in cytosomes, cytosegresomes, multivesicular bodies, and microbodies and their relations to the lysosome concept ". Lab. Invest. 14, 1946.
- TRUMP, B.F.; CROKER, B.P.; MERGNER, W.J. (1970). - " The role of energy metabolism, ion, and water shifts in the pathogenesis of the injury ". Cell Membranes. Biological and Pathological Aspects. Richter / Scarfelli. Amer. Ass. Pathol. Bact. (St. Louis).
- UMEZAWA, H. (1958). - " Kanamycin : Its discovery " Ann. N.Y. Acad. Sci., 76:20-26.

- VINNIKOV, Y.A.; TITOVA, L.K. (1964). - "The organ of Corti ". Consultants Bureau.
- VOLDRICH, L. (1965). - "The kinetics of streptomycin, kanamycin and neomycin in the inner ear ". Act. Otolaryng. 60:243-248.
- VOLDRICH, L. (1967). - "Morphology and function of the epithelium of the limbus spiralis cochlea ". Acta Otolaryngol. 63:505.
- VOLDRICH, L. (1978). - "Mechanical properties of basilar membrane ". Act. Otolaryng. 86:331.
- VOSTEEN, K.H. (1961). - "Neue aspekte zur biologie und pathologie des innenohres ". Arch. Ohr. Nas. Kehlkopfheilk. 178:105.
- WAITZ, J.; MOSS, E.; WEINSTEIN, J. (1971). - "Aspects of the chronic toxicity of gentamicin sulfate in cats ". J. Infect. Dis. Vol. 124. Suppl. December.
- WARD, P.H.; FERNANDEZ, C. (1961). - "The ototoxicity of Kanamycin in guinea pigs ". Ann. Otol., 70:132-142.
- WEINSTEIN, M.; LEUDEMANN, G.; ODEN, E.; WAGNAN, G.; ROSSELET, J.; MARQUEZ, J.; CONIGLIO, C.; CHARNEY, W.; HERZOG, M.; BLACK, J. (1963 a). - "Gentamicin, new antibiotic complex from micospora ". J. Med. Chem. 6:463.
- WERSALL, Y.; FLOCK, A. (1964). - "The effect of Gentamicin on single unit activity in the lateral line organ". Life Sciences, 3:1151.

- WERSALL, J.; LUNDQUIST, P.; BJOYRROTH, Y. (1969). - Ototoxicity of Gentamycin". J. Infect. Dis. Vol. 119. 410-416. (Abril-Mayo).
- WERSALL, J.; BJORKROTH, B.; FLOCK, A.; LUNDQUIST, P. (1971). - " Sensory hair function in vestibular sensory cells after Gentamycin exposure ". Arch. Klin. Exp. Ohr. Nas. Kehlkop. 200:1.
- WERSALL, J.; BJORKROTH, B.; FLOCK, A.; LUNDQUIST, P. G. (1973). - " Experiments on ototoxic effects of antibiotics ". Adv. Oto-Rhino-Laryng., vol. 20, pp. 14-41 (Karger, Basel).
- WERSALL, J.; HAWKINS, J. E. (1962). - " The vestibular sensory epithelial in the cat labyrinth and their reactions in chronic streptomycin intoxication ". Act. Oto-Laryng. 54 (Fas. 1).
- WINKEL, O.; MORK HANSEN, M.; KAABER, K.; ROZARTH, K. (1978). - " A prospective study of Gentamicin ototoxicity ". Acta Otolaryngol. 86:212-216.
- WITTMACK, K. (1907). - " Uber schadigungen des gehors durch schalleinwirkung ". Z. Ohrenheilk. 54:37.
- WRIGHT, I. (1969). - " Investigation of ototoxicity of an antibiotic from micromonospora purpurea (Gentamycin) ". J. Path. Vol. 98.
- YLIKOSKI, J. (1974). - " Correlation between pure tone audiogram and cochlear pathology in guinea pig intoxicated with ototoxic antibiotics ". Act. Oto-Laryng. Suppl. 326.

- YLIKOSKI, J.; WERSALL, J.; BJORKROTH, B. (1974). - " Degeneration of neural elements in the cochlea of the guinea pig after damage to the organ of Corti by ototoxics antibiotics ". Act. Otolaryng. Suppl. 326.
- YLIKOSKI, J. (1974 a). - " Guinea pig hair cell pathology from ototoxic antibiotics ". Act. Otolaryng. Suppl. 326-5:202.
- YLIKOSKI J. (1974 b). - " Guinea-pig hair cell pathology from ototoxic antibiotics ". Act. Otolaryng. Suppl. 326.

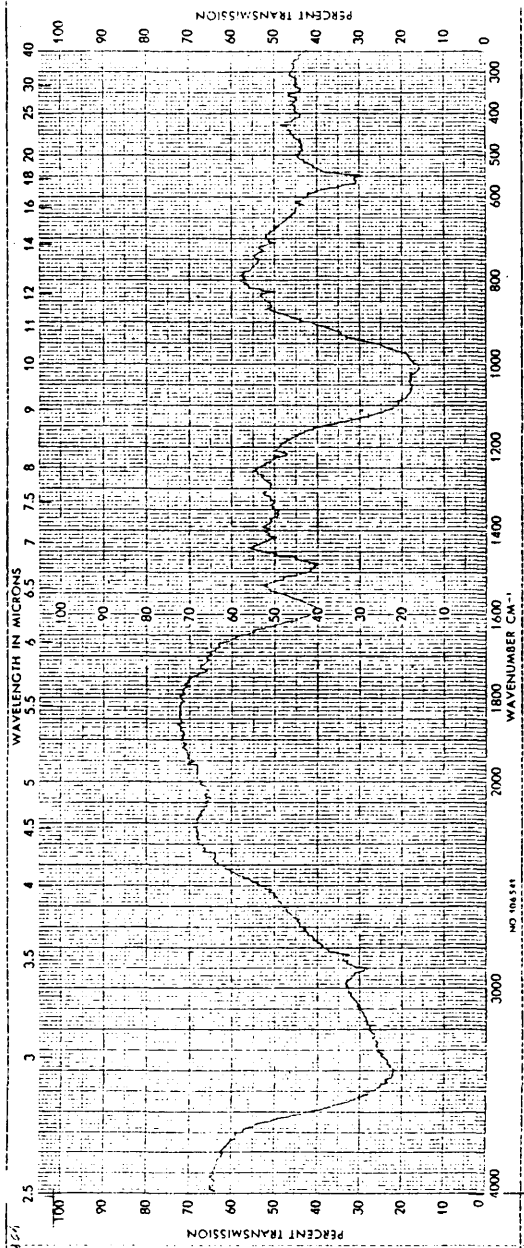
Frontis.- E.V. ,escala vestibular; M.R. ,membrana de Reissner; L.E. , limbo espiral; C. ,corion; M.T. membrana tectoria;E.S. , espacio subtectorial; S.I. ,surco interno; C.I. ,célula ciliada interna; T.C. ,tunel de Corti; C.E. ,célula ciliada externa; C.D. ,célula de Deiters; C.H. ,célula de Hensen; C.S.E. ,célula del surco externo; E.V. ,estría vascular; M.B. ,membrana basilar; E.T. ,escala timpánica; L.C. ,lámina de los contornos; M. ,modiolo.



263

Fig.1 .- Espectro de absorción de infrarrojos de Kanamicina.

SPECTRUM NO. _____
 DATE _____
 SAMPLE _____
 SOURCE _____
 STRUCTURE _____
 PATH _____ mm
 SOLVENT _____
 CONCENTRATION _____
 PHASE _____
 COMMENTS _____
 ANALYST _____



INFRARED
 SPECTROPHOTOMETER

L.T.S.A. P. J. PACISA

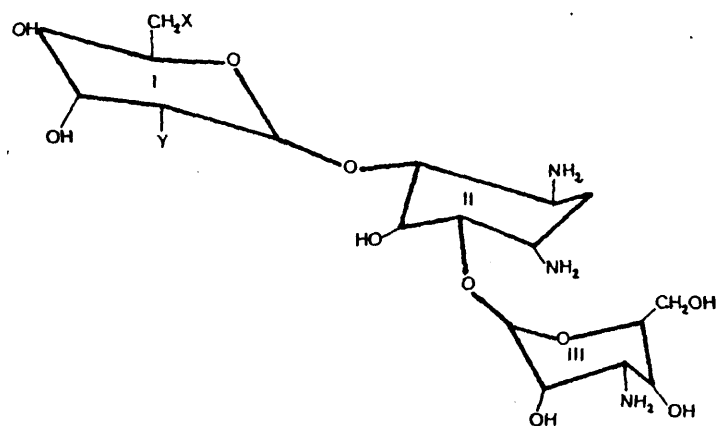
25

265

Fig.2 .- Espectro de absorción de infrarrojos de Gentamicina.

Fig.3 .- Fórmulas de Kanamicina y Gentamicina, con sus tres anillos (I, II y III) y sus distintos componentes, A,B y C para el caso de la Kanamicina, y C₁, C₂, y C_{1a} para la Gentamicina.

268

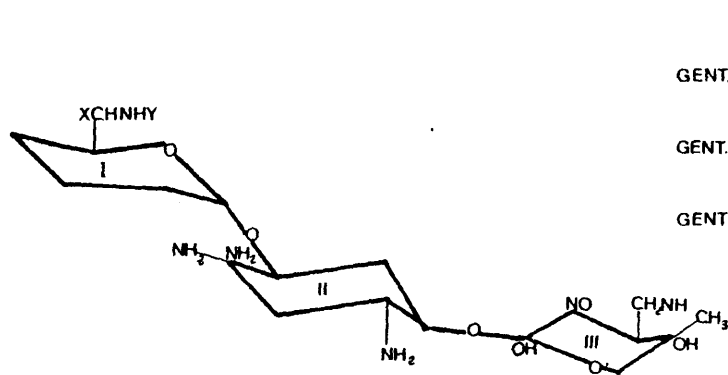


KAN.-A---NH₂.....OH

KAN.-B---NH₂.....NH₂

KAN.-C---OH.....NH₂

KANAMICINA



X Y

GENT. C₁---CH₃.....CH₃

GENT. C₂---CH₃.....H

GENT. C₁₂---H.....H

GENTAMICINA

Fig.4 .- A .- Cromatografía en capa fina de la Gentamicina.
B .- Cromatografía en capa fina de la Kanamicina.

212

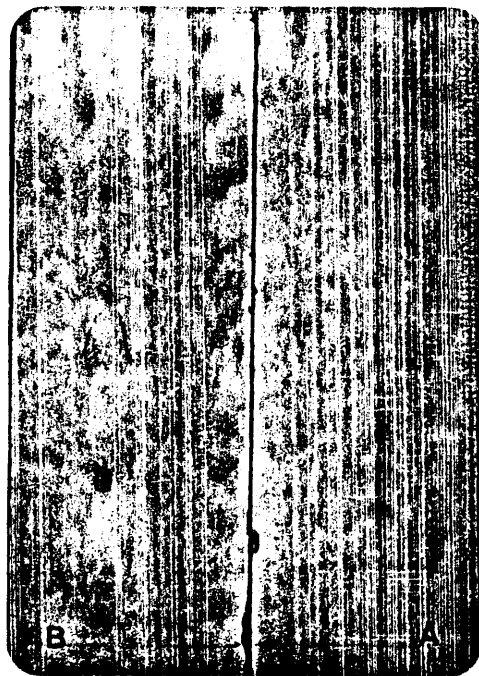


Fig.5 .- Experiencias de titulación y purificación del glutaraldehído. La curva de la izquierda corresponde al glutaraldehído comercial (la flecha indica el pico correspondiente a las impurezas). En la curva de la derecha se observa el descenso de esta línea (flecha), tras aplicar la técnica de Gillet y Gull (1972).



Foto 1.- Complejo de células interdentes (I) que muestran un aumento de vesículas de R.E., algunas de las cuales se encuentran dilatadas (asteriscos); asimismo se observa un aumento de aparato de Golgi (puntas de flecha), y los canales intercelulares (C.I.) algo dilatados. Las uniones intercelulares (flechas largas) a este nivel de mantienen, al igual que la membrana basal (flechas cortas) que aparece en forma continua a lo largo de todo el complejo (Kanamicina 7 días, espira basal). x 14.400.



Lámina II

275

Foto 2. - Célula interdental que muestra gotas lipídicas (L), generalmente en las inmediaciones del núcleo (N). (Kanamicina 7 días, espira basal). x 34.200.

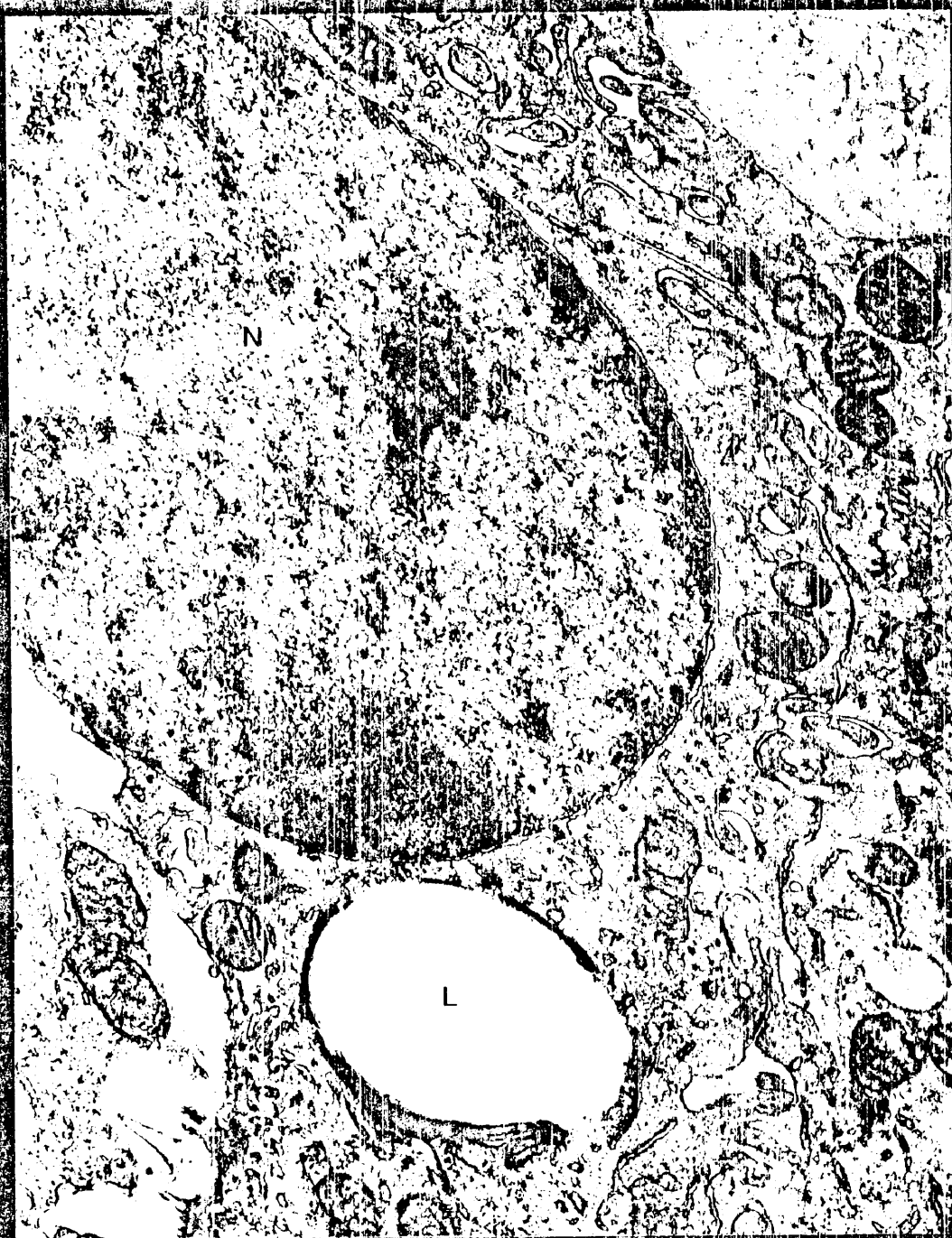


Foto 3.-Células interdentes que muestran un aumento de R.E. y de complejos de Golgi (flechas), en relación esto último, con los canales de los complejos (asteriscos). Los canales interdentes, se encuentran dilatados y contienen un material anhisto (punta de flechas) de densidad electrónica media. (Kanamicina 7 días, 2^a espora). x 25.900.



Foto 4. - Ultimo complejo interdental en relación con las células del surco interno (S.I.). Obsérvese el aumento de R.E. ampliamente distribuido por todo el citoplasma, y el aumento de aparato de Golgi (flechas) en las cercanías de la membrana celular. Notese como la membrana basal (flechas largas) se mantiene integra en todo su recorrido . (Kanamicina, 7 días, 3^a espira). x 14.400.



Foto 5.- Células del surco espiral interno, de forma irregular, con prolongaciones de su citoplasma hacia la luz. Presentan gran cantidad de R.E.L. dilatado, y algun lisosoma (flecha) suelto. Algunas de estas células muestran un citoplasma de densidad electrónica elevada (asterisco). (Kanamicina, 7 días, Vértice). x 13.680.

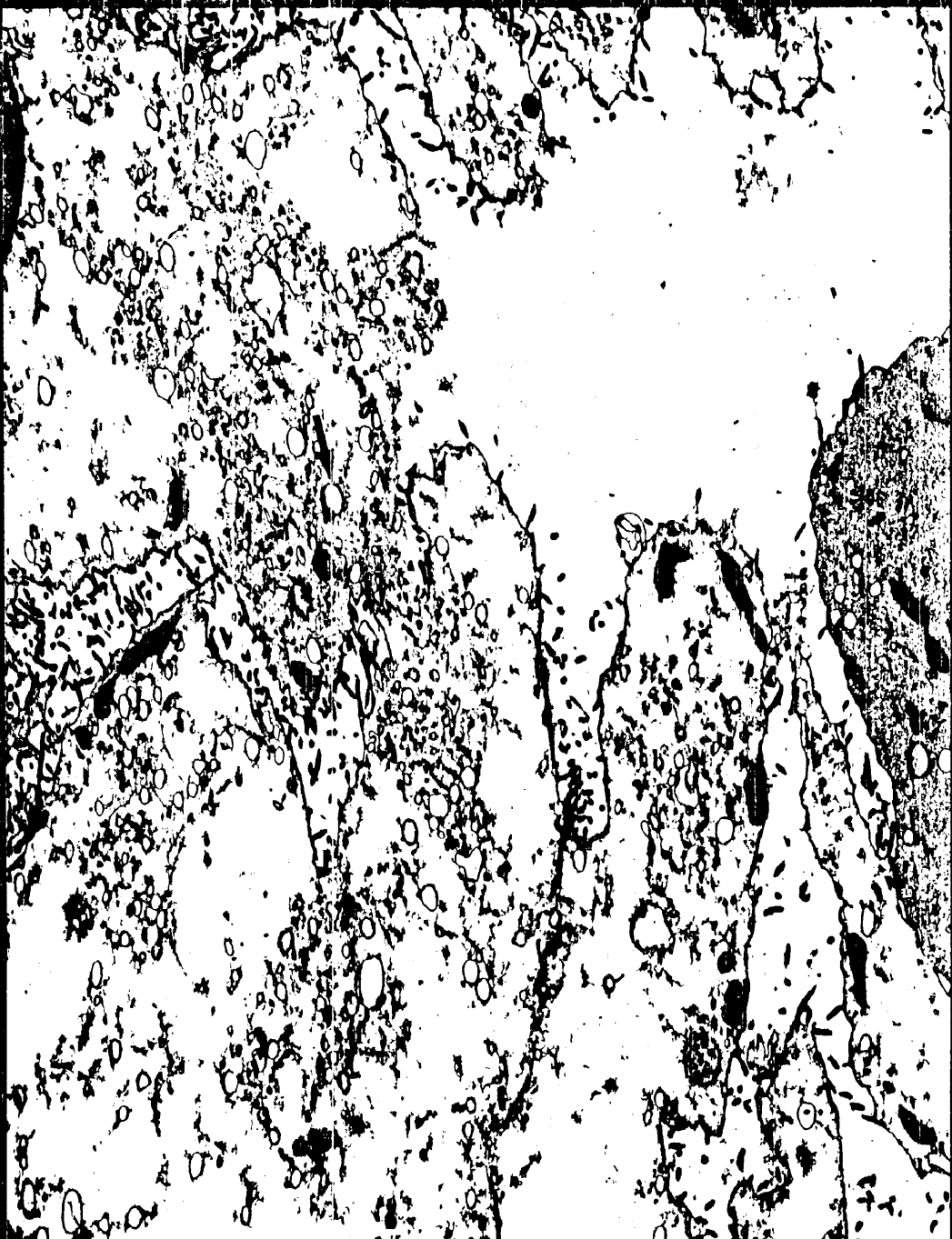


Foto 6.-Células del surco espiral interno que muestran aumento y dilatación del R.E. Algunas de estas células presentan una formación redondeada, no limitada por membrana, de densidad electrónica media (flecha). (Kanamicina, 7 días, Vertice). x 14.400.



Foto 7..- Región interna; las células de Deiters internas y células marginales muestran un aumento con dilatación de R.E. al mismo tiempo que la densidad hialoplasmica se encuentra aumentada. En la parte hialoplasmica de las células marginales se observan algunos lisosomas (asteriscos). (Kanamicina, 7 días, 3^a espora). x 14.500.

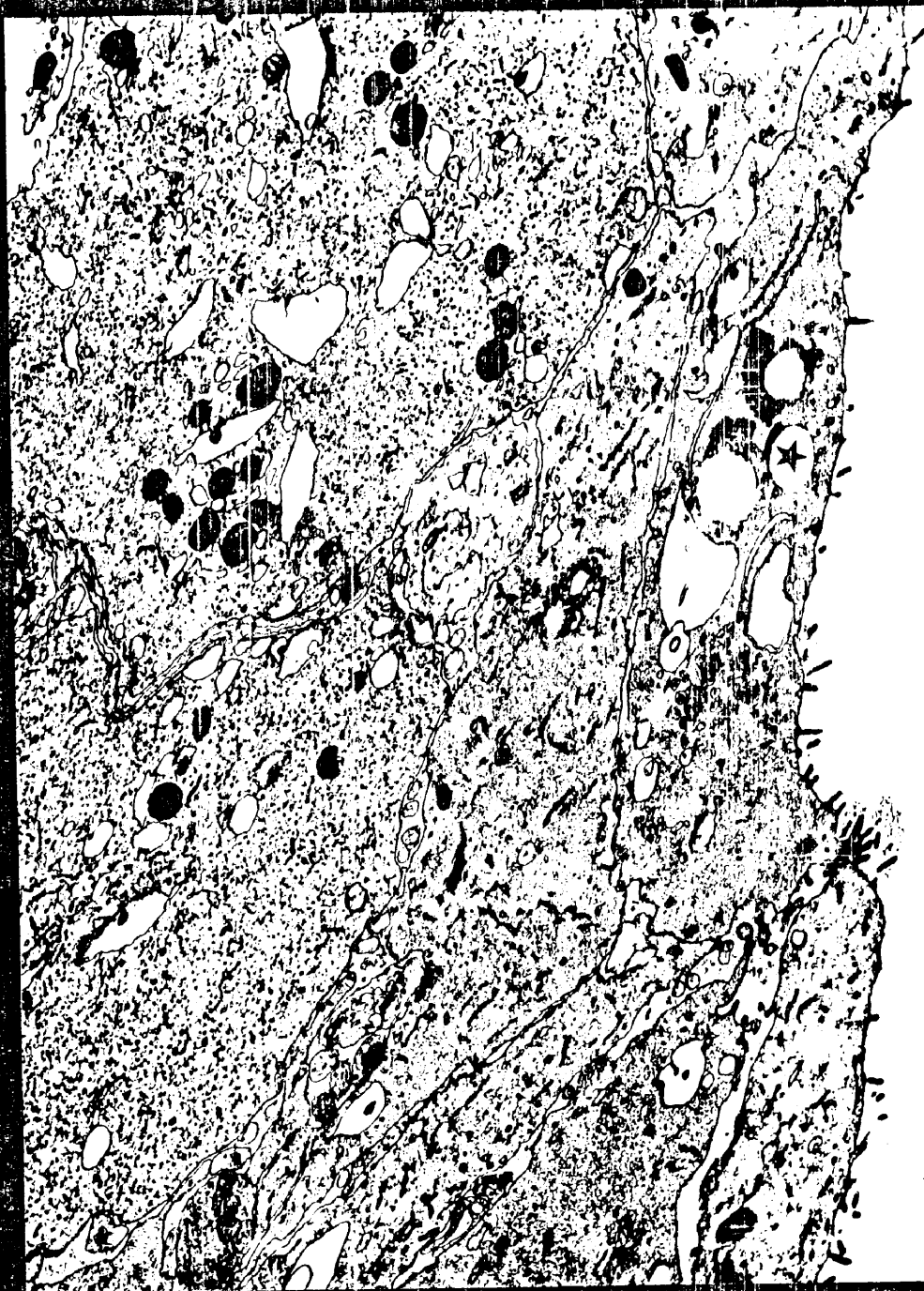


Foto 8.- Célula ciliada interna (I) cuyos cilios, de grosor habitual, muestran una matriz algo mas clara de lo normal. La cutícula (C) de superficie irregular presenta una disminución de su densidad electrónica . (Kanamicina, 7 dias, Vértice). x 22.800.

Foto 9.- Celulas ciliadas internas (I) cuyos polos cuticulares (C) se encuentran elevados sobre su superficie. Note-se como algunos cilios son mas cortos de lo normal (asterisco) y como algunos penachos ciliares se encuentran caidos sobre la superficie endolinfática. (Kanamicina, 7 dias, Vértice). x 9.500.

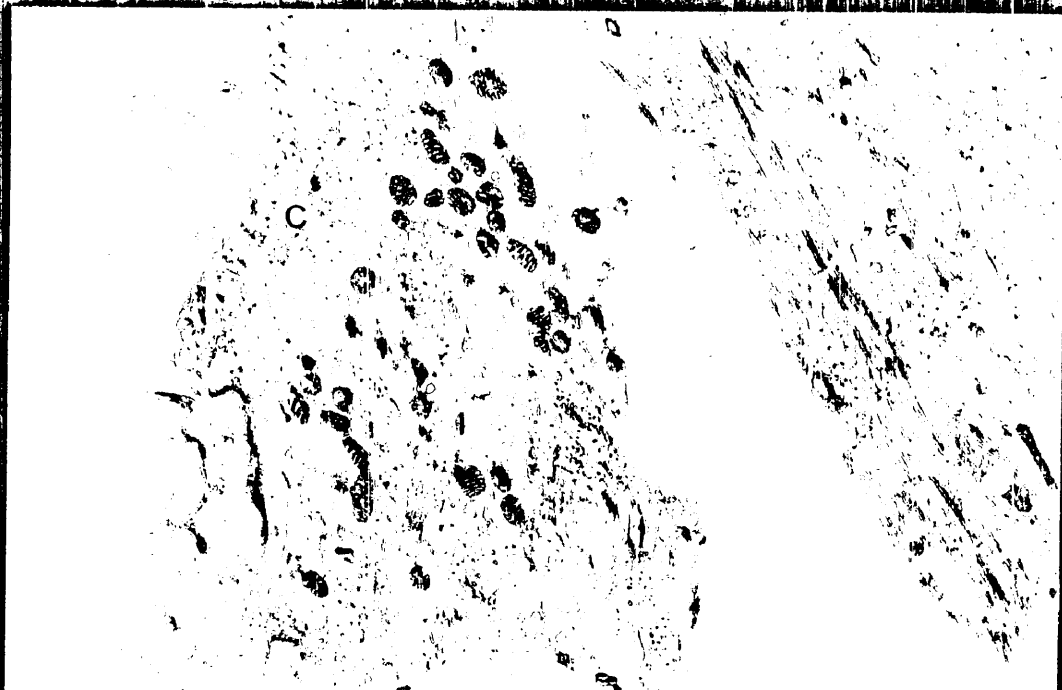


Foto 10.- Pilar interno que presentan aumento y dilatación del R.E. en la porción basal del pie del pilar, a nivel del cuerpo vitreo de Held. La membrana basal (flechas) aparece íntegra a todos los niveles. (Kanamicina, 7 días, Vertice).
x 28.000.



Lámina X

291

Foto 11.- Parte média (tallo) de pilar interno, que muestra a todos los niveles gran cantidad de vesículas de distintos tamaños, así como un aumento de las cisternas de R.E.L. (Kanamicina, 7 días, Vertice). x 14.400.

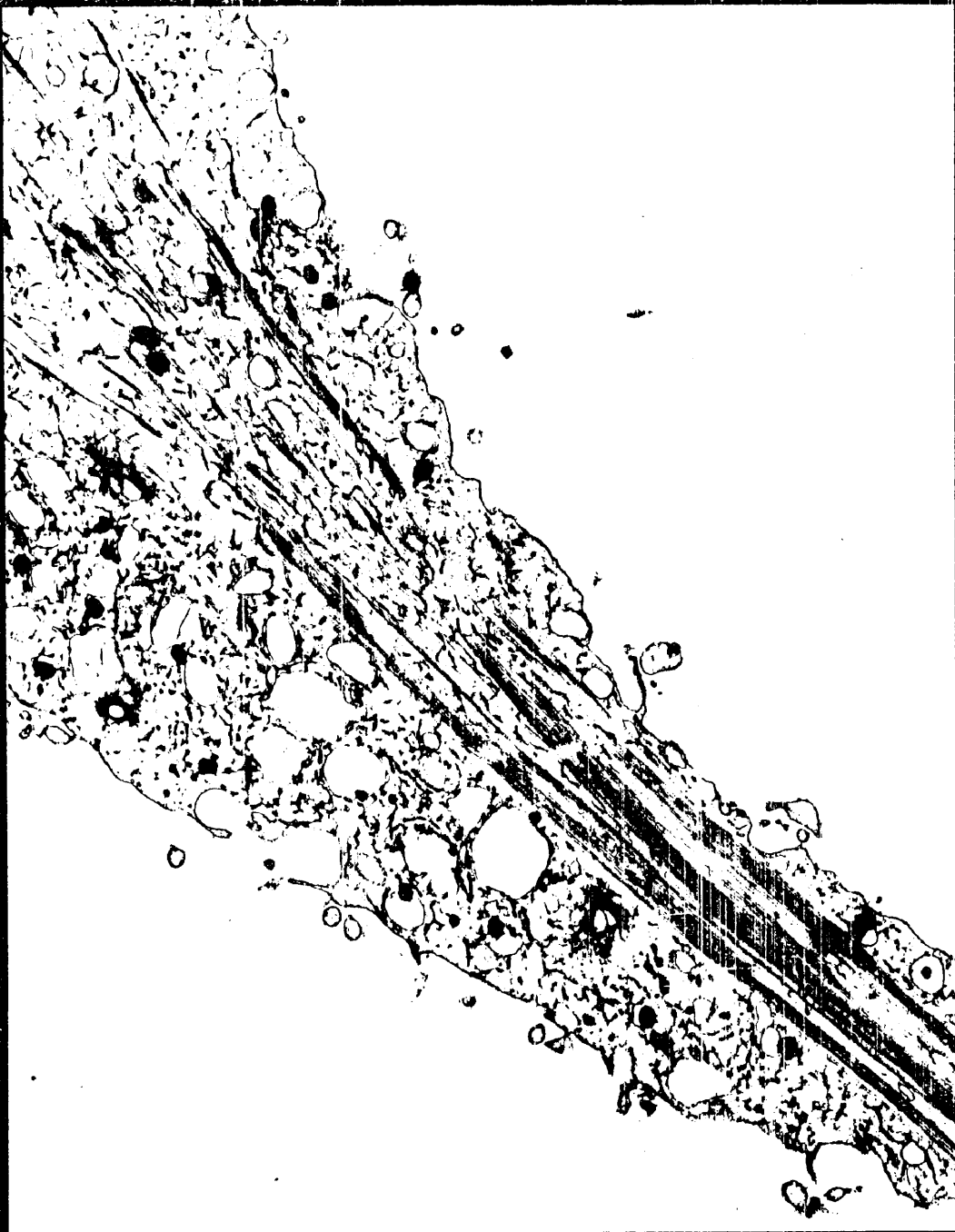


Foto 12.- Células ciliadas externas (E) de contorno irregular que muestran un adelgazamiento de la cutícula (C), con áreas claras (asteriscos) y material cuticular (flechas) en el espesor del citoplasma celular. Notese como se mantiene el engrosamiento articular a nivel de la unión con las prolongaciones falángicas (P.F.), las cuales presentan un gran aumento de vesículas de R.E. (Kanamicina, 7 días, Vértice). x 7.200.

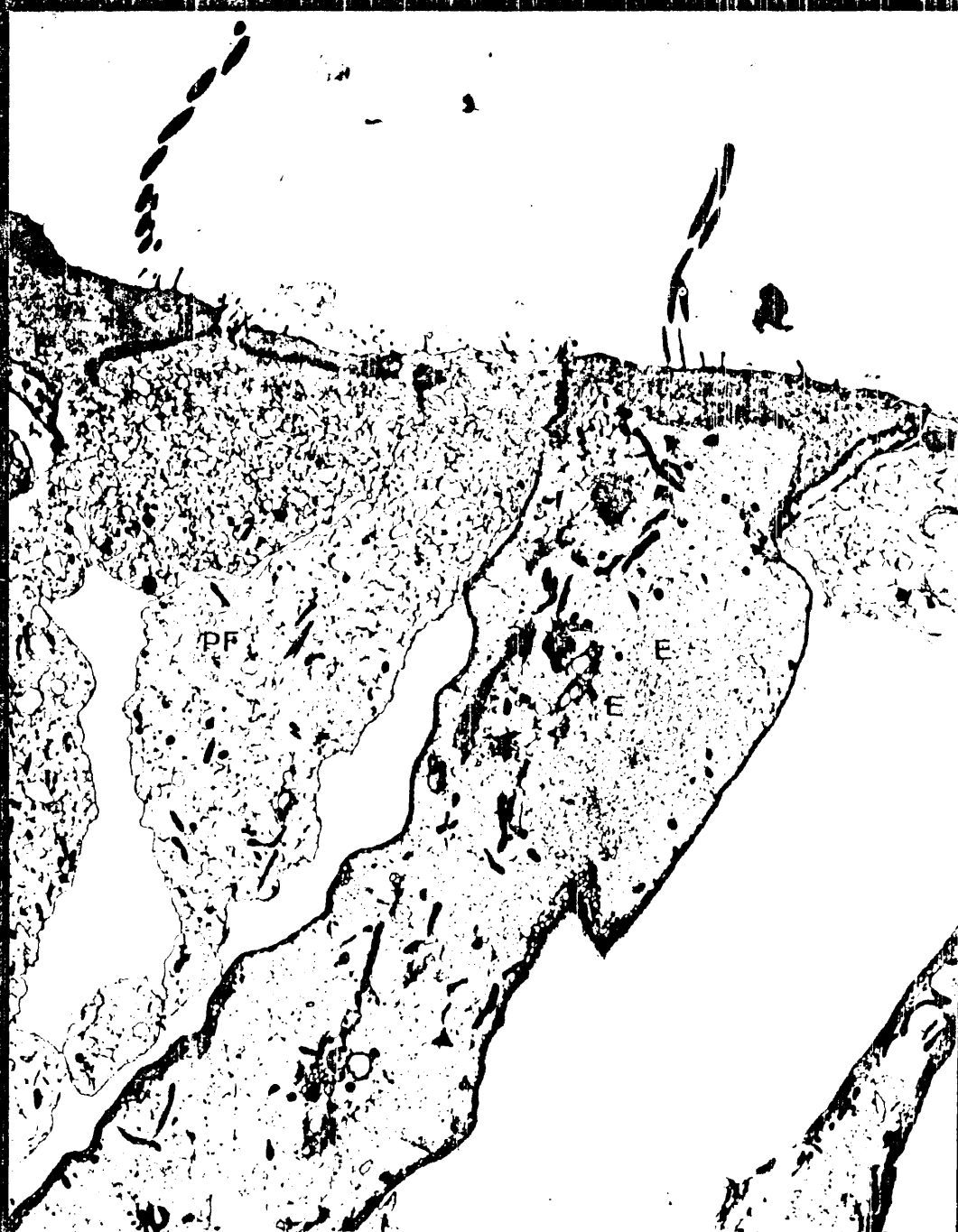


Foto 13.- Célula ciliada externa, cuyas vesículas de R.E.L. que conforman las ventanas fenestradas muestran gran dilatación, así como un aumento manifiesto de aparatos de Golgi (flechas) en la parte superior de estas células .
(Kanamicina, 7 días, Vértice). x 14.400.



Foto 14.- Parte superior de célula ciliada externa que muestra un adelgazamiento y disminución de la densidad electrónica cuticular (C). Las vesículas de R.E. rodean fragmentos de citoplasma tendiendo a formar cuerpos de Hensen (H). (Kanamicina, 7 días, Vértice). x 27.300.



Foto 15.- Célula ciliada externa con aumento de lisosomas (L) de situación subcuticular, al mismo tiempo que la cutícula se encuentra adelgazada, parte de esta aparece en situación anómala en el interior del citoplasma celular (flechas). (Kanamicina, 7 días, Vértice). x 34.200.

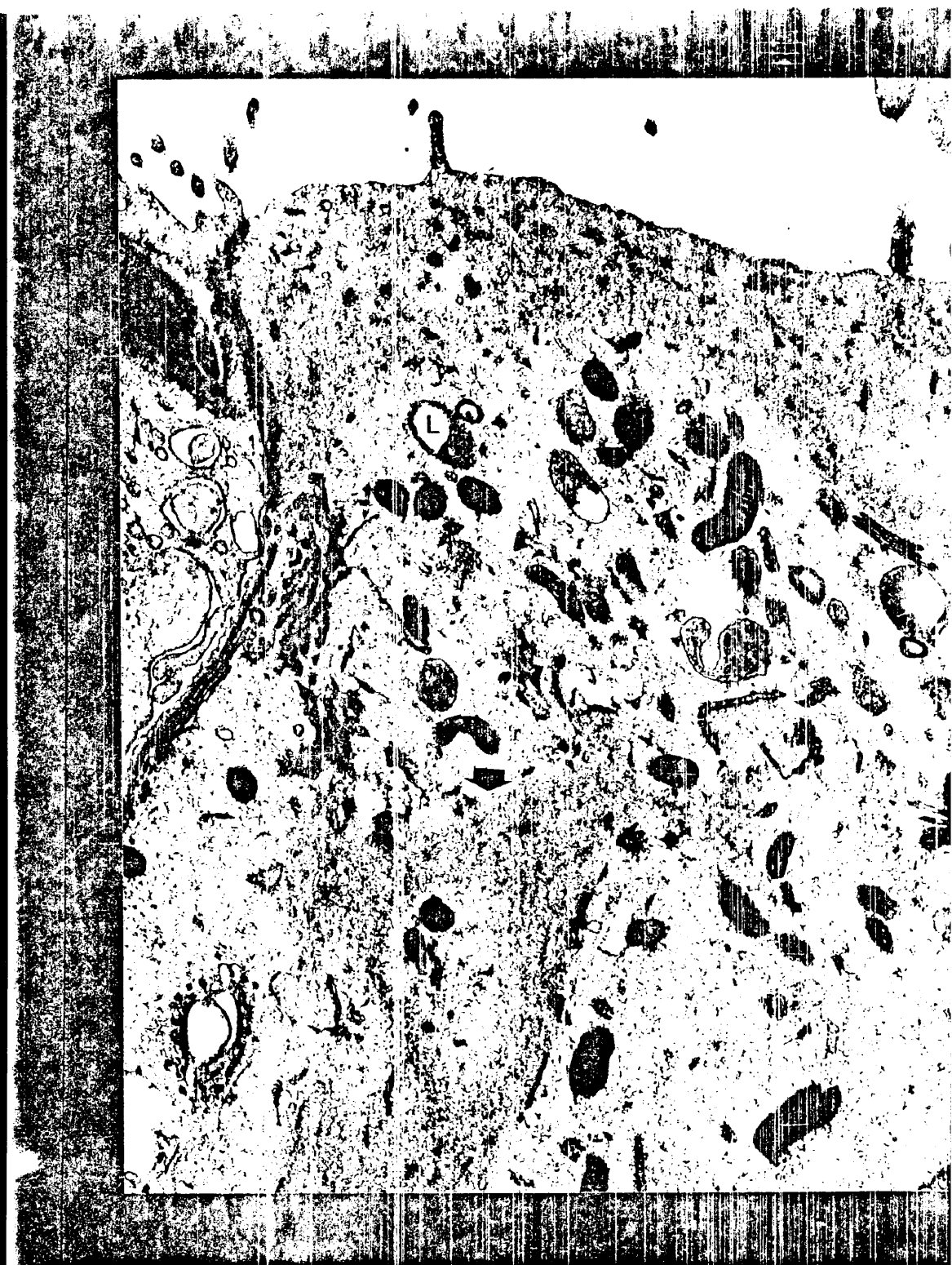


Foto 16.- Parte central de célula ciliada externa que muestra resto de cutícula (flechas) y aumento segmentario de membranas fenestradas con enclaustramiento de parte del citoplasma (puntas de flecha) rodeado por vesículas de R.E. y mitocondrias . (Kanamicina, 7 días, Vértice). 12.000.



Foto 17.- Células ciliadas externas (E) cortadas transversalmente y células de Deiters (D). Observe, áreas citoplasmicas rodeadas por membrana y R.E. (flechas) en el interior de células ciliadas externas (E). Las células de Deiters externas (D) muestran un aumento manifiesto de vesículas de R.E. Algunas de estas células presentan un aumento de su densidad electrónica (asteriscos). (Kanamicina 7 días, 2^a espora). x 13.200.

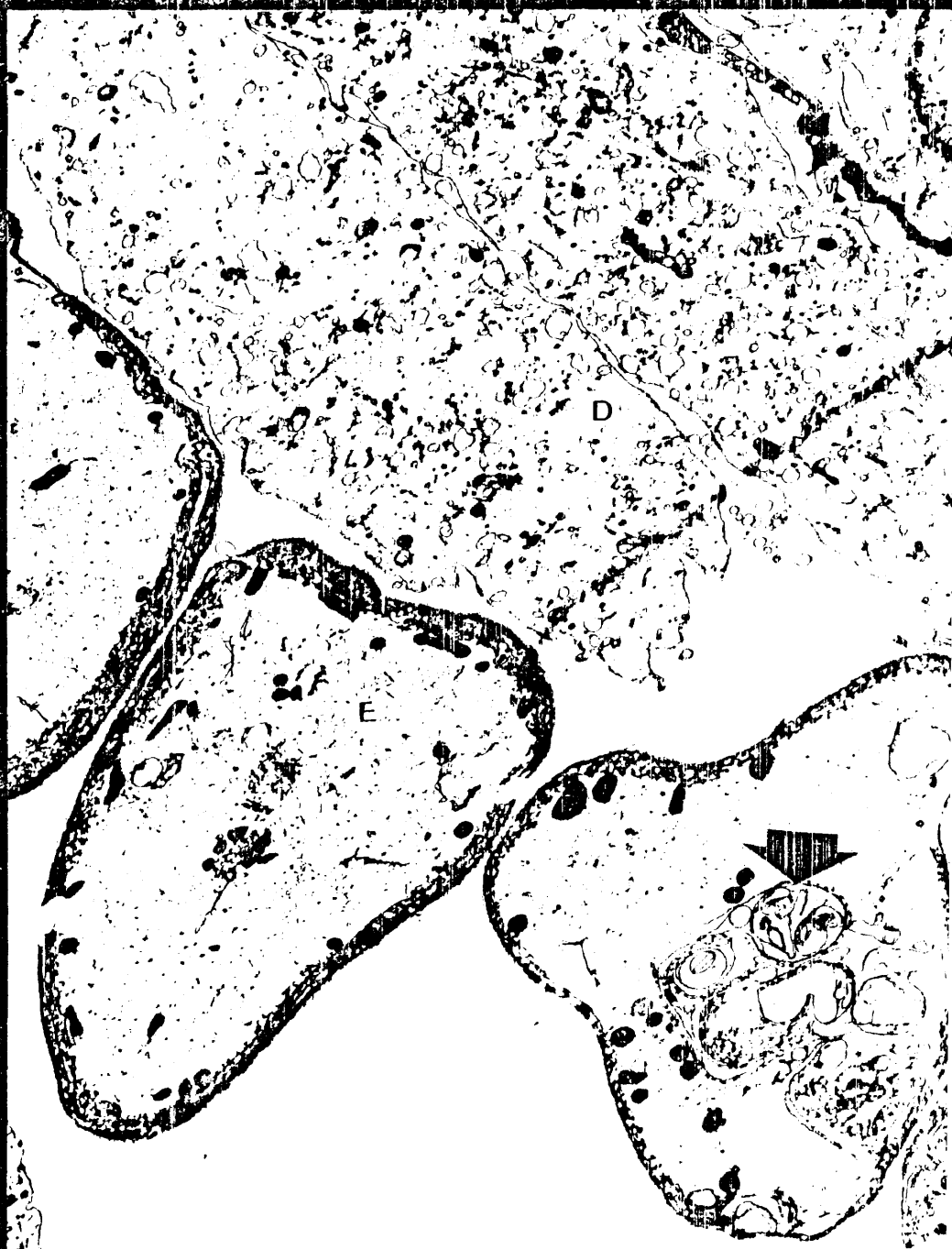


Foto 18.- Región de las células ciliadas externas cuya W ciliares aparecen en algunos puntos desestructuradas (flechas) con algunas perdidas de elementos ciliares y caída de los mismos sobre la superficie endolinfática (asterisco) Notese como la 1^a hilera se mantiene dentro de los límites normales. (Kanamicina, 7 días, 2^a espira). x 9.300.

Foto 19.- Región de las células ciliadas externas, con desestructuración de la W ciliar a nivel de la 2^a y 3^a espira, con disminución del número de cilios y caída de estos elementos sobre la membrana reticular. (Kanamicina, 7 días, 3^a espira). x 10.000.

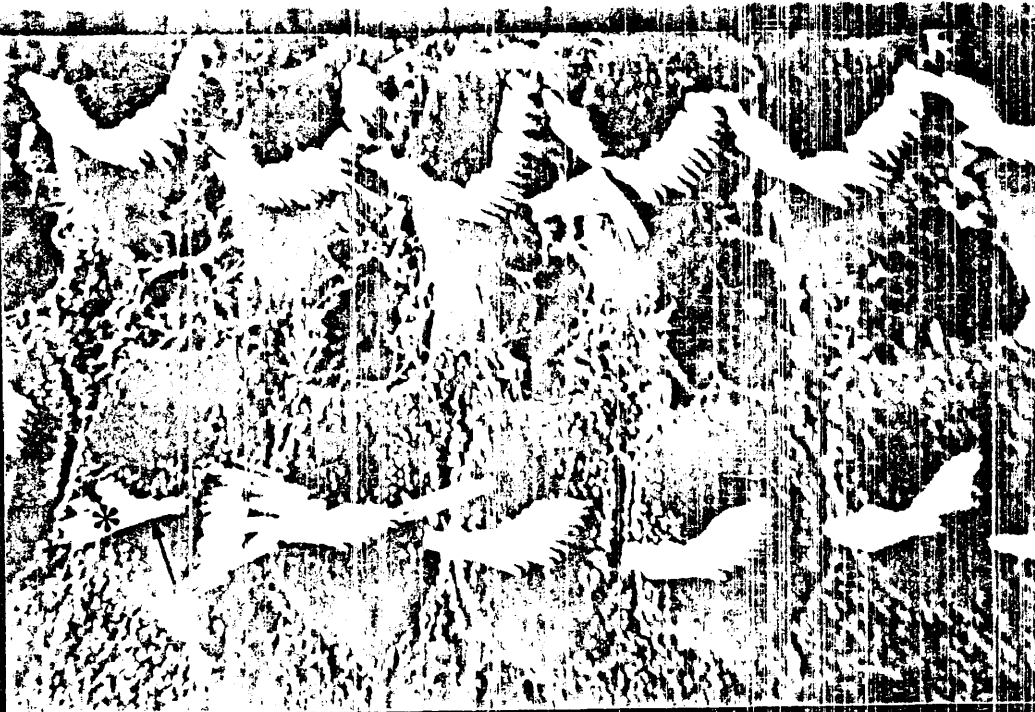


Lámina XVIII

302

Foto 20.- Región de las células ciliadas externas cuya estructura normal en W ha desaparecido, mostrando una clara disminución de esterocilios y pérdida de rigidez de los mismos que se encuentran caídos sobre la superficie endolinfática. (Kanamicina, 7 días, Vértice). x 10.000.



Foto 21.- Células de Deiters externas (D), con áreas de mayor densidad electrónica (flechas largas) a nivel inferior, en contacto con la membrana basilar (B). Muestran un aumento de vesículas pequeñas de R.E.L. (flechas cortas). (Kanamicina, 7 días, 2^a espira). x 3.600.



Lámina XX

311

Foto 22.- Prolongaciones falángicas de células ciliadas
externas que muestran grandes vesículas (asteriscos).
(Kanamicina, 7 días, Vértice). x 28.000.



- Foto 23.- Células del corion externo que muestran formaciones redondeadas (asteriscos) surcadas por pseudomembranas estratificadas en su porción mas externa. Algunas mitocondrias (flechas) presentan rarefacción de parte de su matriz. Notese el aumento y dilatación de vesículas de R.E. (Kanamicina, 7 días, basal). x 38.000.

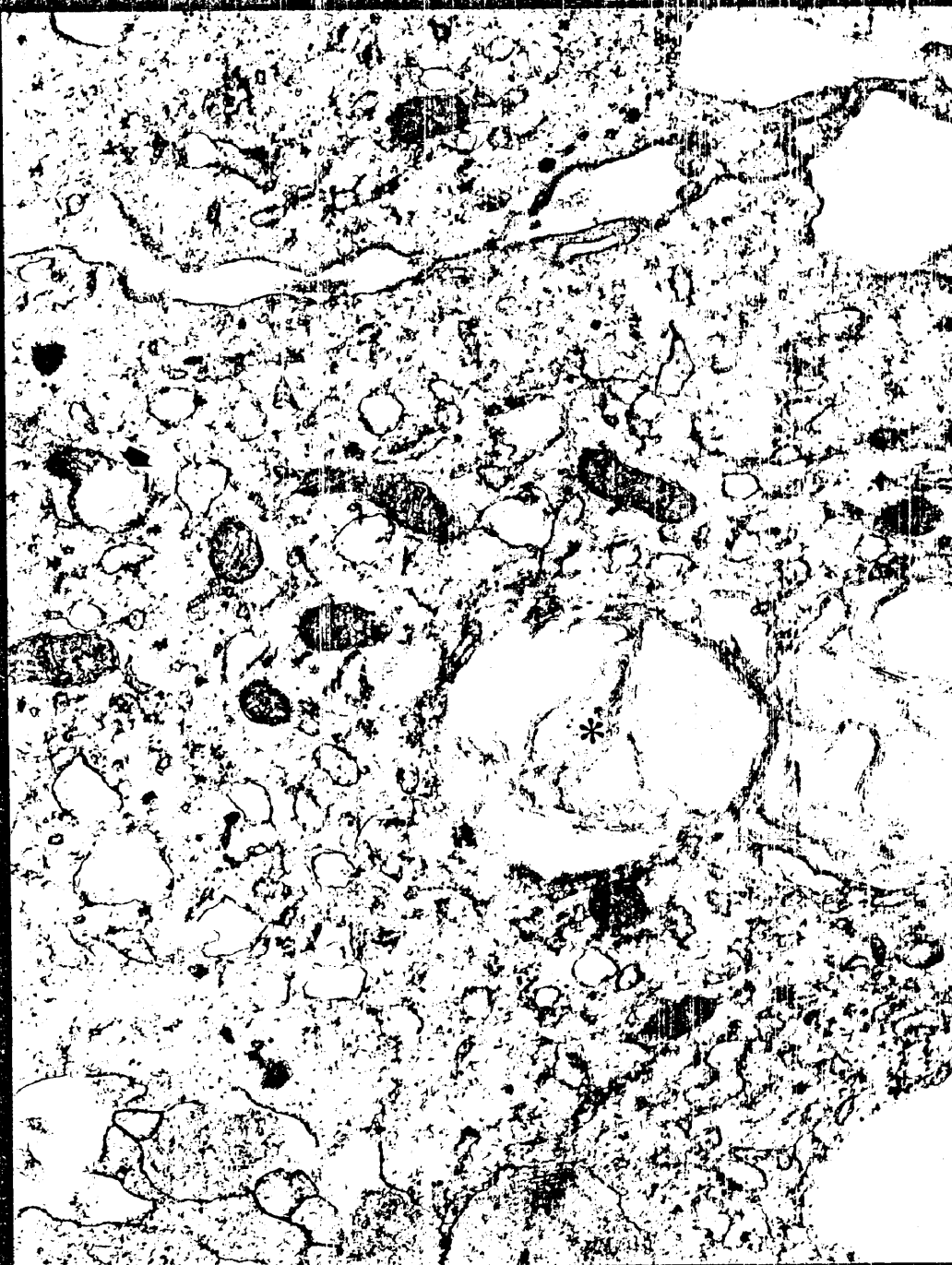


Lámina XXII

315

Foto 24.- Porción libre de membrana tectoria, con gran cantidad de espacios vacíos de distintos tamaños y contorno irregular que se continúan con las fibras que componen la membrana. (Kanamicina, 7 días, Vertice). x 14.000.

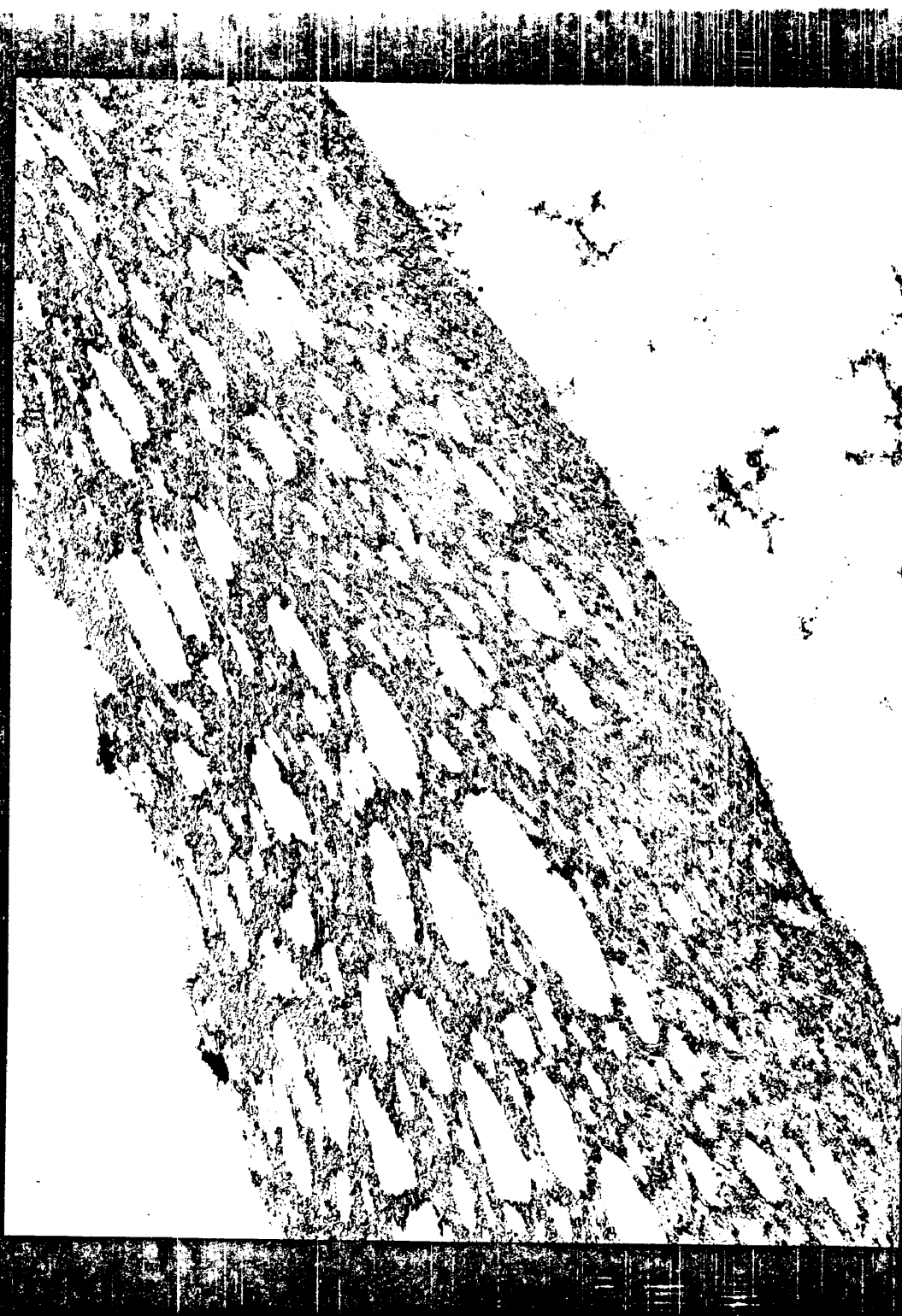


Foto 25.- Porción fija de membrana tectoria con grandes acúmulos de material anhisto (asterisco) de gran densidad electrónica, con lisosomas (L) y vesículas claras (flechas). (Kanamicina, 7 días, Vértice). x 27.800.



Foto 26.- Membrana de Reissner. Las células de la cara endolinfática (E) muestran aumento de R.E. y gran cantidad de vesículas claras de distintos tamaños (asterisco). Las células de la cara perilinfática (P) contienen algunas imágenes de pseudomieline y algunas vesículas de R.E. (Kanamicina, 7 días, Vertice). x 24.000.



Lámina XXV

321

Foto 27.- Membrana basilar. Los vasos capilares presentan gran cantidad de vesículas de micropinocitosis (flechas) y pequeñas excrecencias de las células endoteliales (E) hacia la luz (L)..(Kanamicina, 7 días, Vértice). x 37.000. .



Lámina XXVI

323

Foto 28.- Limbo espiral (L.E.) y membrana de Reissner (R).
Las células interdentes presentan canales intercelulares
de gran tamaño (asteriscos), gotas lipídicas (L) y vesículas
intracelulares (flechas). El corion interno contiene gran
cantidad de células estrelladas, rodeadas de un halo claro.
(Kanamicina, 17 días, Basal). x 2.500.

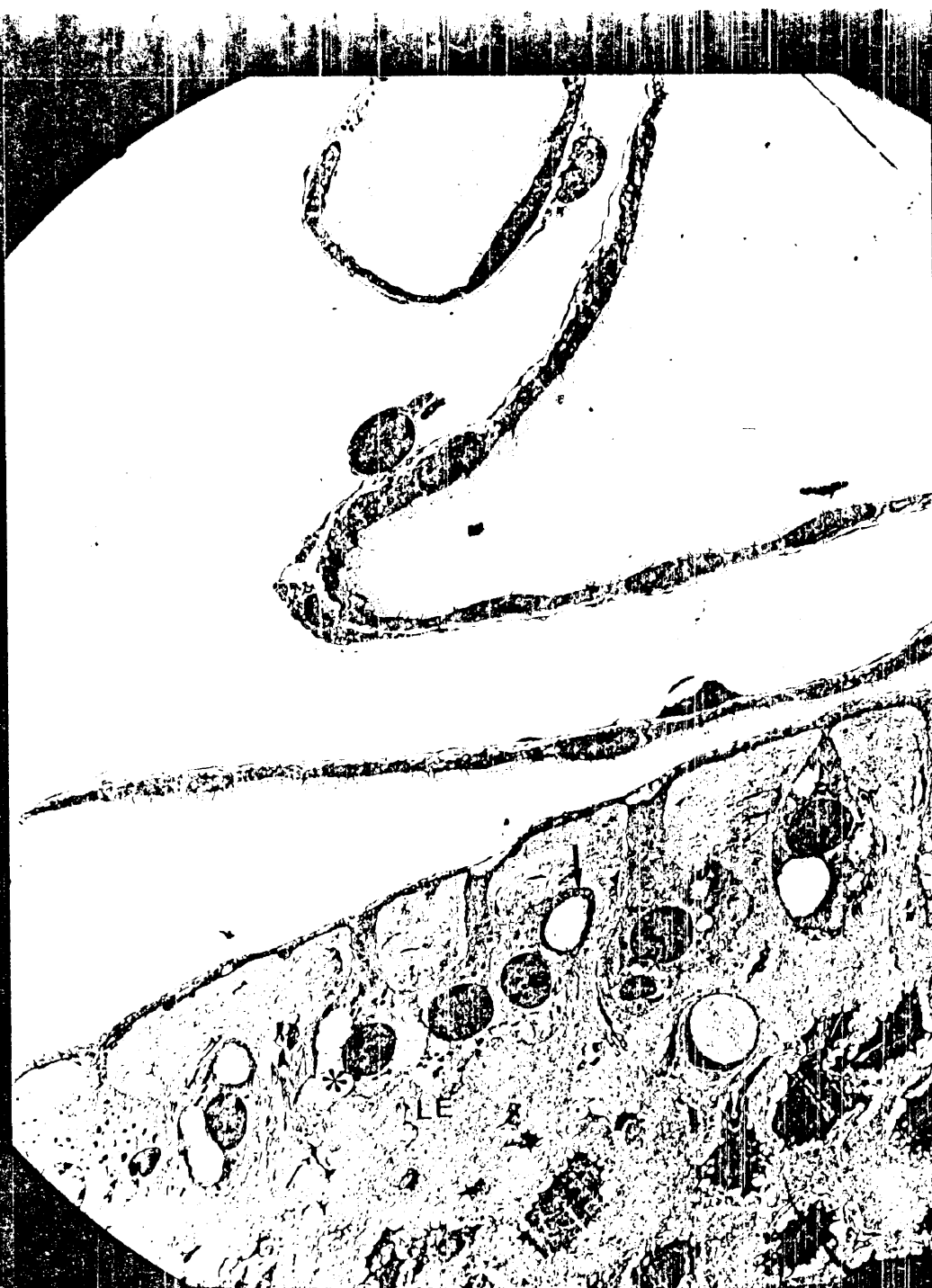


Lámina XXVII

325

Foto 29.- Complejos interdentes con vesículas lipídicas (asteriscos), escasa cantidad de R.E. y algunas mitocondrias. La membrana basal (flechas) que recubre los complejos interdentes se mantiene íntegra . (Kanamicina, 15 días, 2^a espira). x 12.000.



Lámina XXVIII

327

Foto 30.- Región del limbo espiral a nivel del corion interno cuyas células estrelladas de halo claro pericelular se muestran mas juntas entre si, con grandes prolongaciones que se enrollan sobre si mismas. (Kanamicina, 15 dias, 2^a espira). x 7.200.



Foto 31.- Célula estrellada de corion interno con gran halo pericelular y vesículas lisosómicas (L) en el interior del citoplasma. (Kanamicina, 15 días, 3^a espiro). x

11 200

Foto 32.- Corion externo. Vaso capilar con detritus celulares en sus cercanías. Notese como los complejos interdentales (I) adyacentes se encuentran dentro de los límites de la normalidad. (Kanamicina, 15 días, Basal). x
12.900.

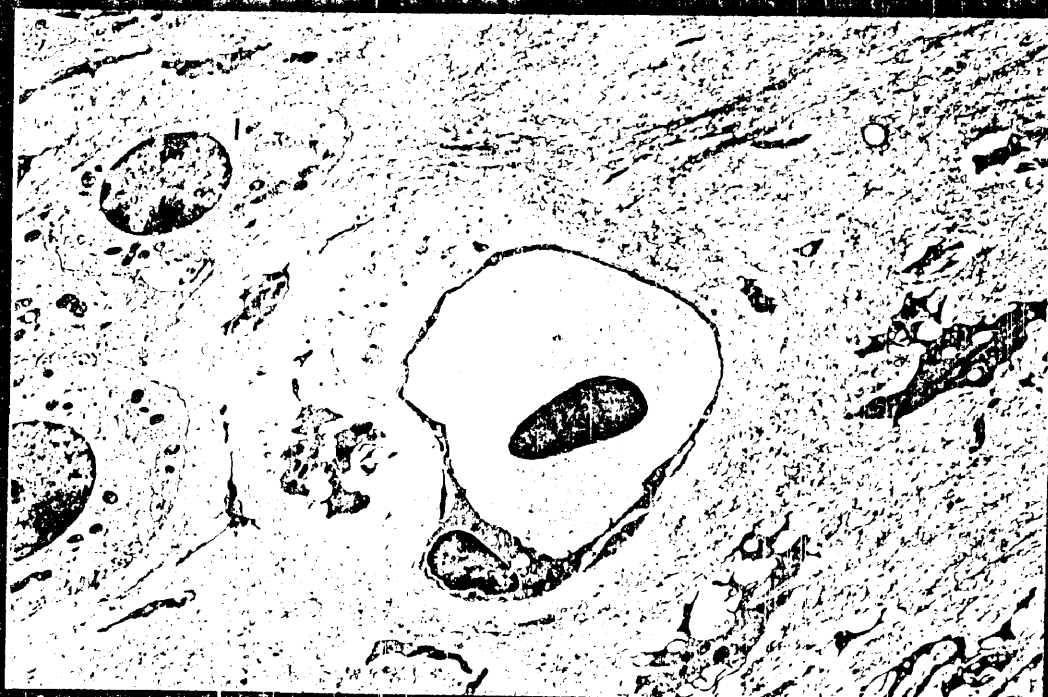


Foto 33.- Región de células ciliadas internas. Las prolongaciones apicales de las células marginales presentan lisosomas (L) a este nivel. La célula ciliada interna (I) muestra lisosomas (L), vesículas claras de distintos tamaños (flechas) e irregularidades a nivel cuticular (C). (Kanamicina, 15 días, Basal). x 8.800.



Foto 34.- Células ciliadas internas. Presentan una disminución del grosor cuticular así como de la densidad electrónica de la misma. A nivel del espacio endolinfático (E) formaciones irregulares (flecha) con vesículas de R.E. La superficie cuticular emite proyecciones filiformes (puntas de flecha) hacia la cavidad endolinfática. (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 24.000.

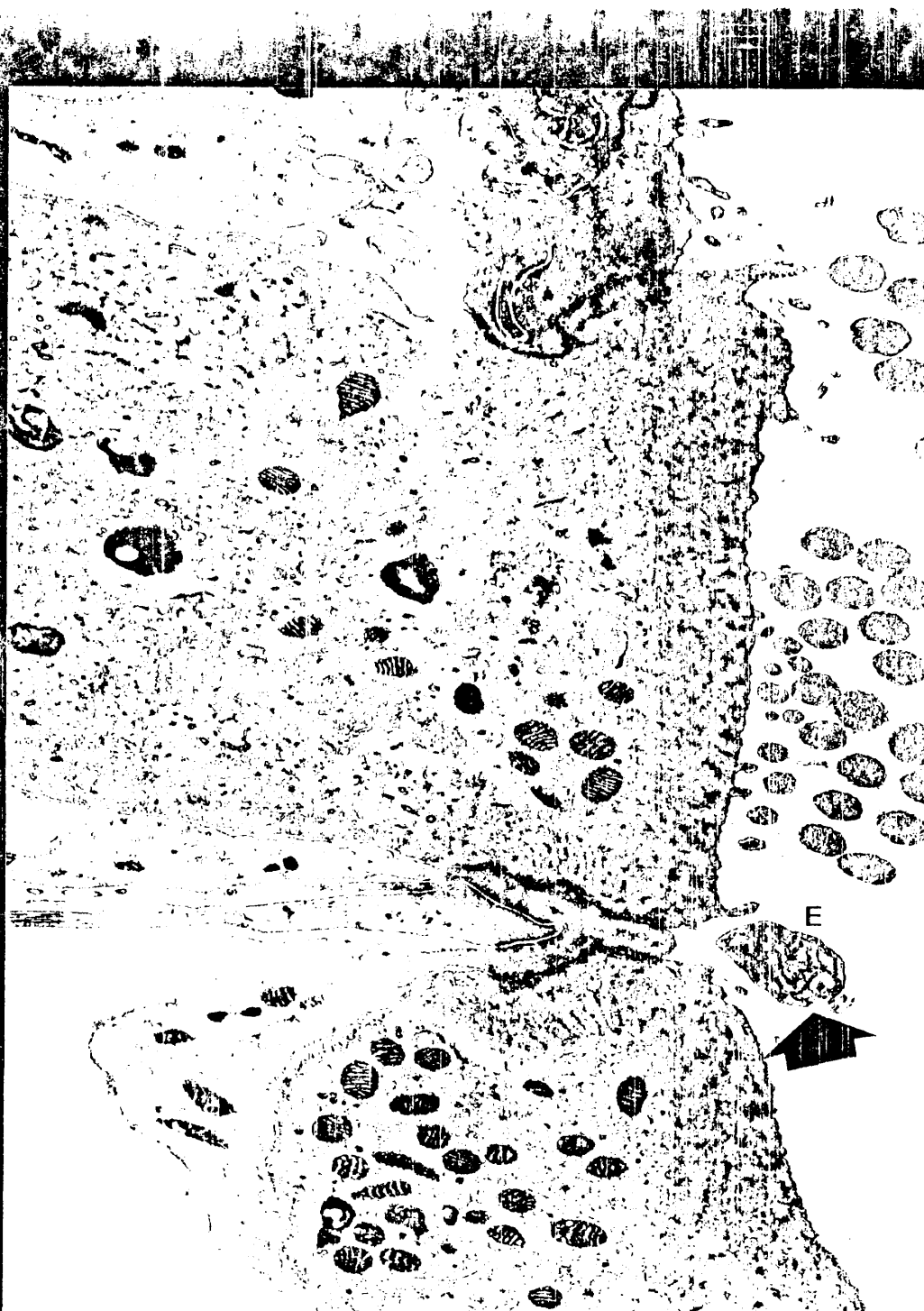


Foto 35.-Porción apical de célula ciliada interna. La superficie cuticular irregular muestra elementos ciliares deformados. La densidad electrónica de la cutícula se encuentra disminuida manteniéndose las uniones con el pilar interno (P.I.) y célula de Deiters interna (D.I.). (Kanamicina, 15 días, 3^a espira). x 28.000.

Foto 36.- Región interna. Imagen invertida de mitocondrias (flechas) de células de Deiters internas tumefactas que bordean el plexo interno. P.I. Pilar interno. (Kanamicina, 15 días, 2^a espira). x 18.500.



Foto 37.- Región de las células ciliadas externas. Las células ciliadas externan contienen abundantes cuerpos de Hensen (H) y proliferación de las membranas fenestradas (flechas). La cutícula aparece de forma irregular (asterisco) con lisosomas subcuticulares (puntas de flechas) y áreas de cutículas a nivel de la parte media de estas células (C). Entre estas células se observan prolongaciones falángicas de densidad electrónica mayor de lo habitual. (flechas largas) y restos celulares (R). (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 3.600.

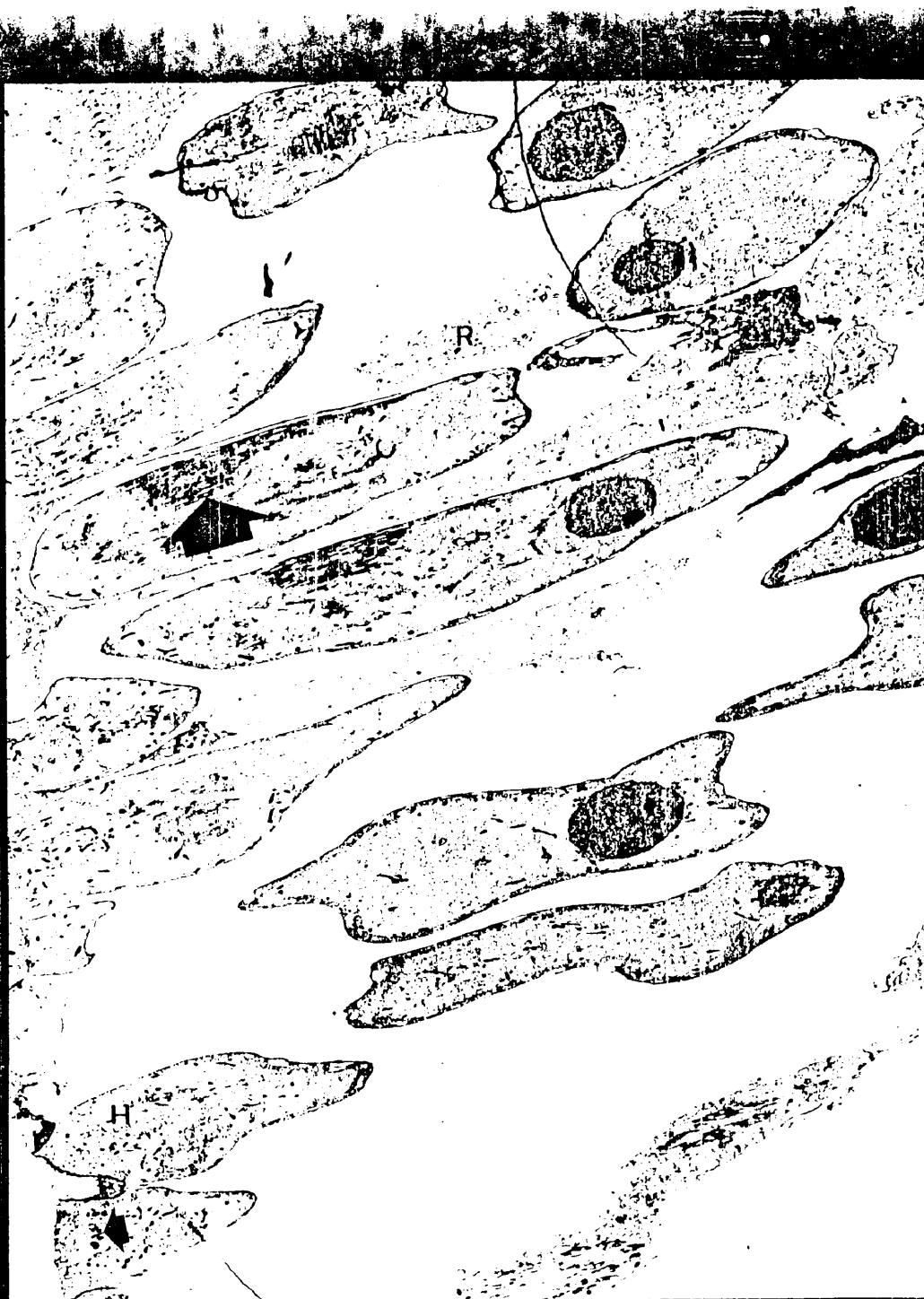


Foto 37 det..- Región de células ciliadas externas. Desestructuración cuticular (C) con irregularidades, lisosomas (flechas) y zonas de cutícula en zona media de células ciliadas externas. La prolongación falángica central (D) muestra un aumento de su densidad electrónica, y adelgazamiento de su grosor. Obsérvese como se mantienen las uniones entre las células ciliadas y prolongaciones falángicas. (Kanamicina, 15 días. Vértice). x 11.700.



Foto 38.-Célula ciliada externa (E) cuya superficie endolinfática protruye hacia la rampa coclear. La cutícula (C) aparece con irregularidades y disminución de su densidad electrónica. Presente gran cantidad de lisosomas (flechas) a este nivel. Det. :- imagen de M.E.B. de células ciliadas externas cuya superficie se abomba hacia afuera. (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 22.800. Detalle: x14.000.

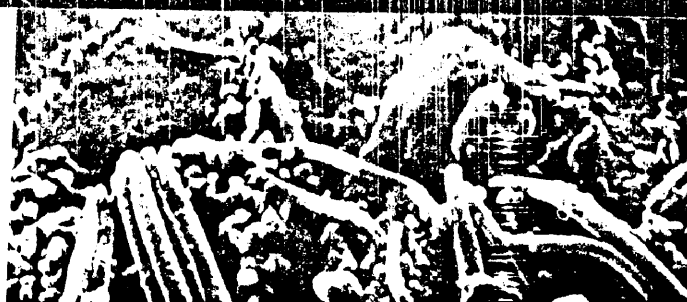


Foto 39.- Célula ciliada externa. La cutícula (C) enormemente disminuida de grosor presenta raíces ciliares (flechas) en su seno. Ci, estereocilios. (Kanamicina, 15 días, Vertice). x 36.000.



Lámina XXXVII

315

Foto 40.- Imagen de superficie de la membrana reticular. Observese la desestructuración de la geometría ciliar, fundamentalmente a nivel de 2ª y 3ª hilera de células ciliadas externas (E). Los cilios han perdido su rigidez y se encuentran caídos sobre la superficie endolinfática. (Kanamicina, 15 días, 3ª espiro). x 8.000.

Foto 41.- La imagen ilustra las mas notables alteraciones de las células ciliadas. La perdida de rigidez ciliar, se asocia con la aparición de formas ciliares anómalas. Se observan perdidas parciales o totales de cilios en los polos mundiales de las células sensoriales. Son datos prominentes, la aparición de excrecencias microvellositarias sobre las cutículas en vías de demudación (flechas), así como la asociación de cilios en vías de destrucción con material grumoso en pequeños acúmulos (G). (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 13.500.

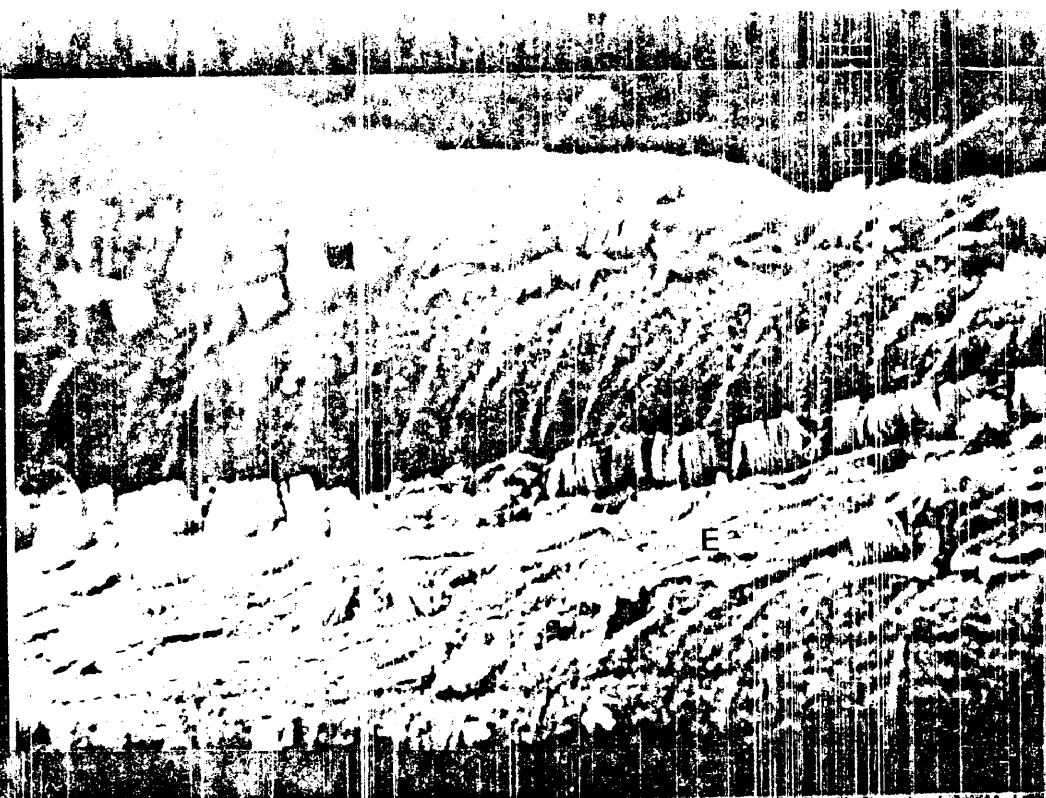


Foto 42.- Las preparaciones de M.E.T. ilustran el hecho de observarse una aposición y/o fusión ciliar, que concuerda perfectamente con lo observado en superficie. (Kanamicina, 15 días, 3^a espira). x 36.000.

Foto 43.-La imagen corresponde a la región de las células de Deiters externas y muestra la diferencia de densidad electrónica del hialoplasma que puede observarse entre algunos de estos elementos. Los restantes componentes de estas células mas densas (mitocondrias, microtúbulos, etc.) no suelen mostrar profundas alteraciones, permaneciendo unidas estas células con las adyacentes por medio de uniones adherentes (Detalle). (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 19.200. Det. x 200.000.



Lámina XXXIX

347

Foto 44.- La microfotografía corresponde a una imagen tomada de una célula de soporte. El sistema de cisternas de retículo endoplasmico aparece aumentado en numero y dilatado de forma difusa, en toda la extensión de la célula. (Kanamicina, 15 dias, Vértice). x 28.000.

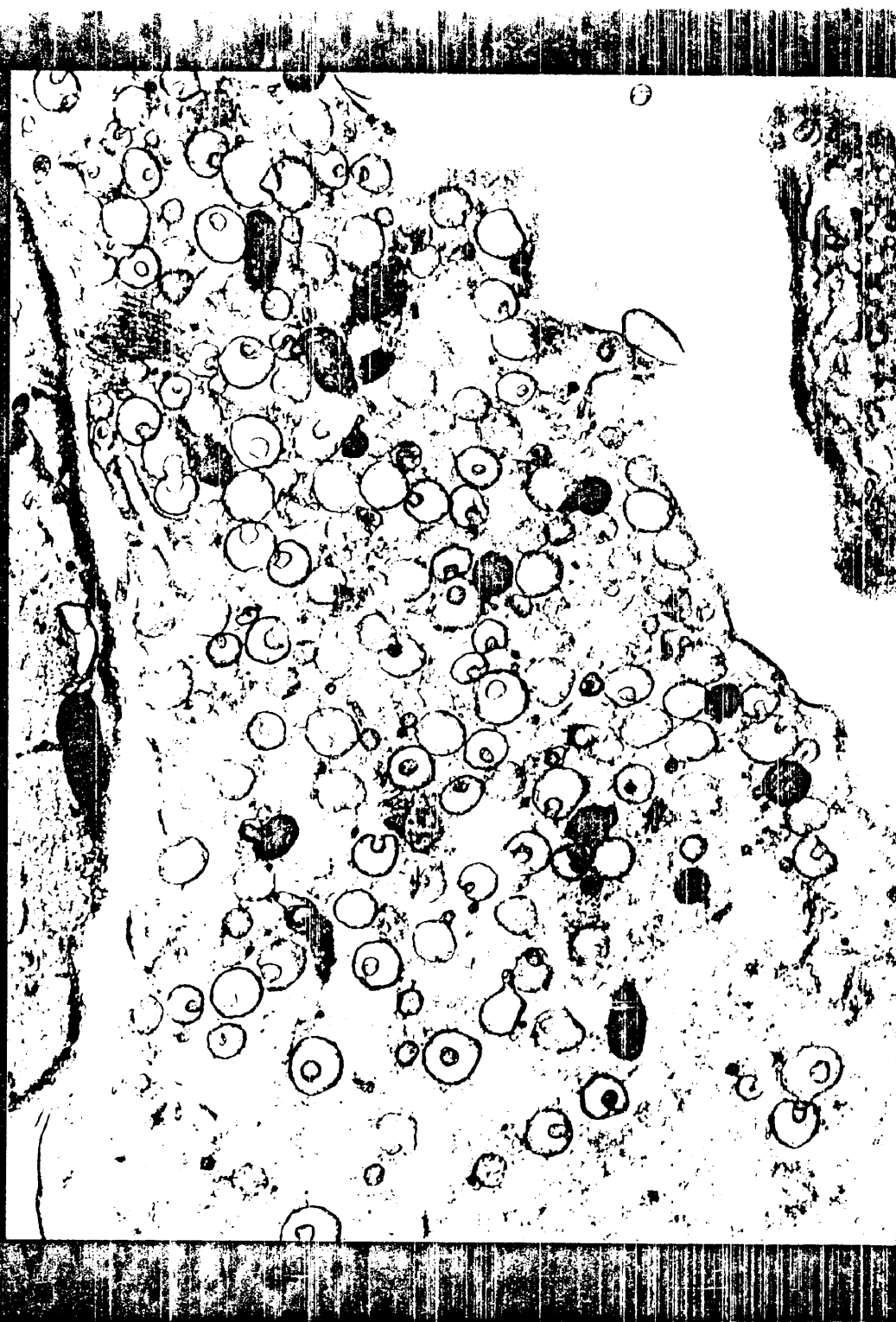


Foto 45.- El citoplasma de las células de Hensen queda reducido a una fina banda periférica, al ser rechazado por grandes acúmulos lipóideos (L). (Kanamicina, 15 días, 3ª espora). x 6.720.

Foto 46.- Imagen de microscopia de barrido correspondiente a las células de Hensen situadas en las espiras más altas. La aparición de crateres en estos elementos, asociados con material grumoso disperso, es muy prominente. (Kanamicina, 15 días, Vértice) x 16.000.

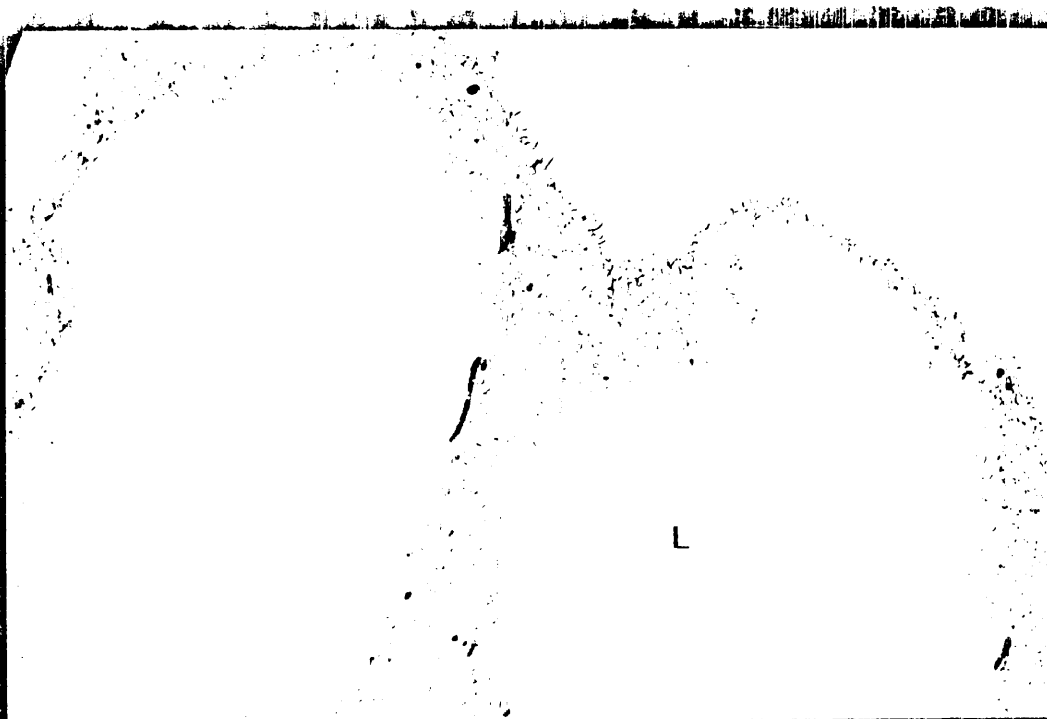


Foto 47..- Imagen correspondiente a la pared externa de la escala media, en la que se observan componentes del surco externo (S.E.), de la prominencia (P), del corion externo (C.E.) y de la estria vascular (E.V.). Observese la aparición de cuerpos lipoideos así como extrañas formaciones lamelares (asteriscos y flechas respectivamente), en las células del corion externo, estas células presentan al mismo tiempo dilataciones de sus espacios intercelulares. (Kanamicina, 15 días, 3^a espiro). x 6.000.

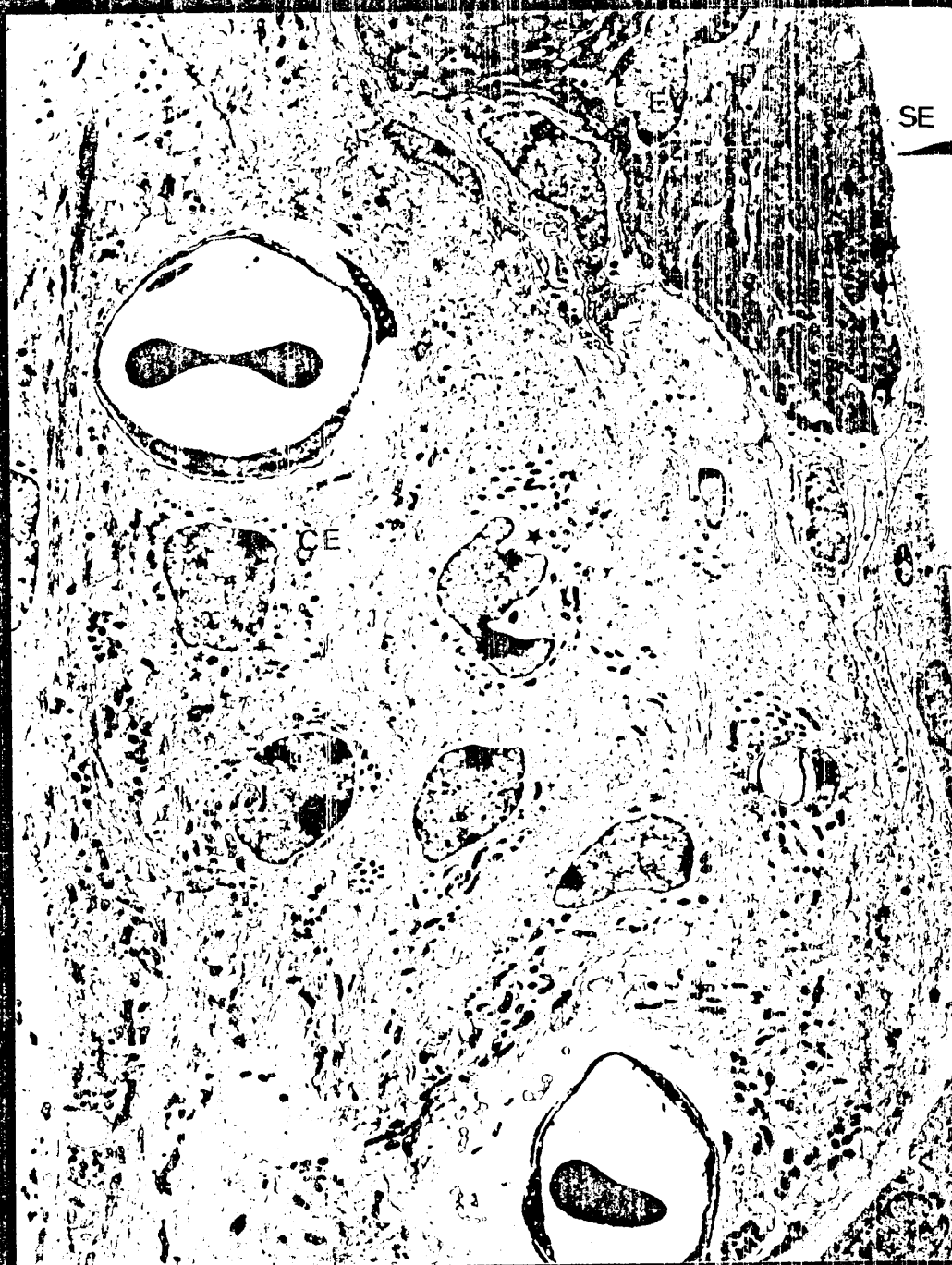


Foto 47 (Det. A) .- La imagen corresponde al recubrimiento superficial de la prominencia espiral. Se observa una gran tortuosidad del laberinto basal, así como una gran abundancia de microvesículas de pinocitosis. La membrana basal acompaña en sus irregularidades a la base de la célula (flechas). (Kanamicina, 15 días, 3^a espira). x 24.000.



Foto 47 (Det. B) .- Imagen de una formación de densidad electrónica similar a la grasa, tabicada por septos que le dan una apariencia lamelar. (Kanamicina, 15 días, 3^a espira). x 40.000.

Foto 48.- Imagen de una célula del surco externo, que se identifica por su estrecha relación con la membrana basal y la existencia de canales intercelulares tabicados por finas proyecciones de las células. Notese el aspecto dilatados de estos últimos elementos (asteriscos). (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 32.000.

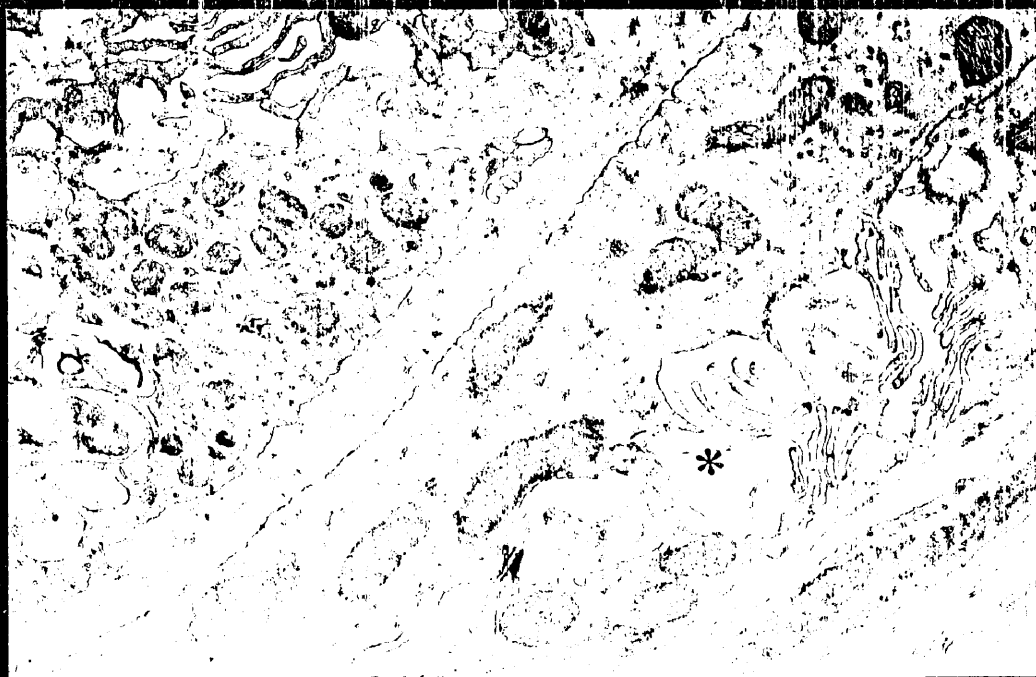
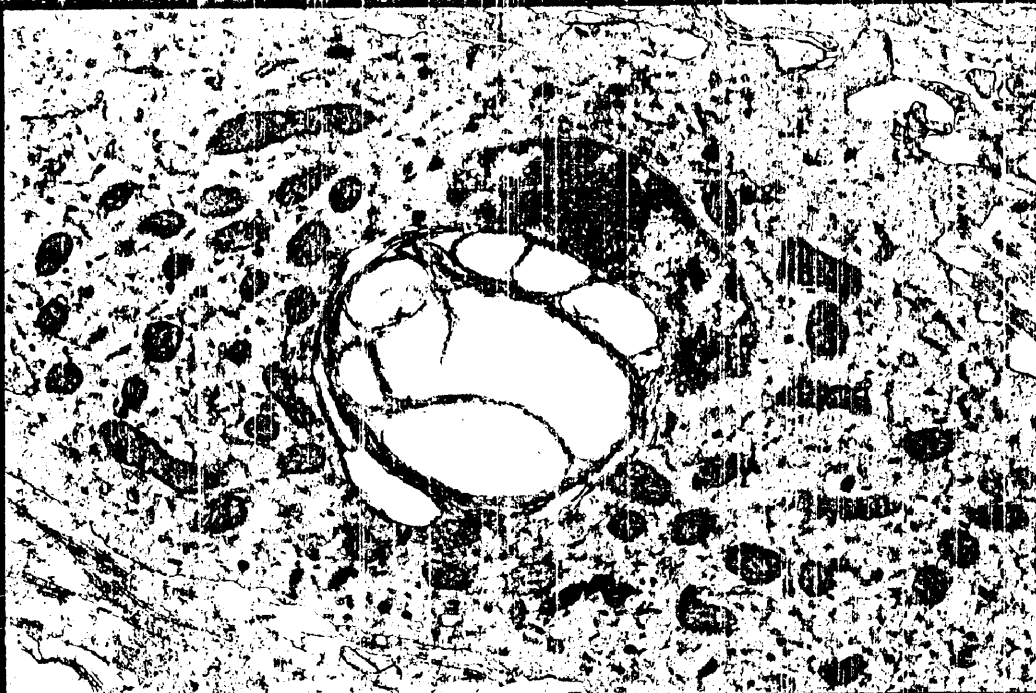


Foto 49.- Detalle de algunas células del corion externo, que como es característico presentan largas uniones entre si (flechas). Algunas de estas células presentan en su citoplasma cisternas de reticulo dilatadas (puntas de flechas), asi como cuerpos de inclusión de densidad electrónica similar a la grasa (asterisco). (Kanamicina, 15 dias, Basal). x 14.400.



Foto 50..-Detalle de un capilar del corion externo, en el que se observan abundancia de vesículas de micropinocitosis (flechas). Las células adyacentes al espacio perivascular, que es muy amplio, presentan dilatación discreta de su sistema cisternal (asteriscos). (Kanamicina, 15 días, Basal). x 20.000.

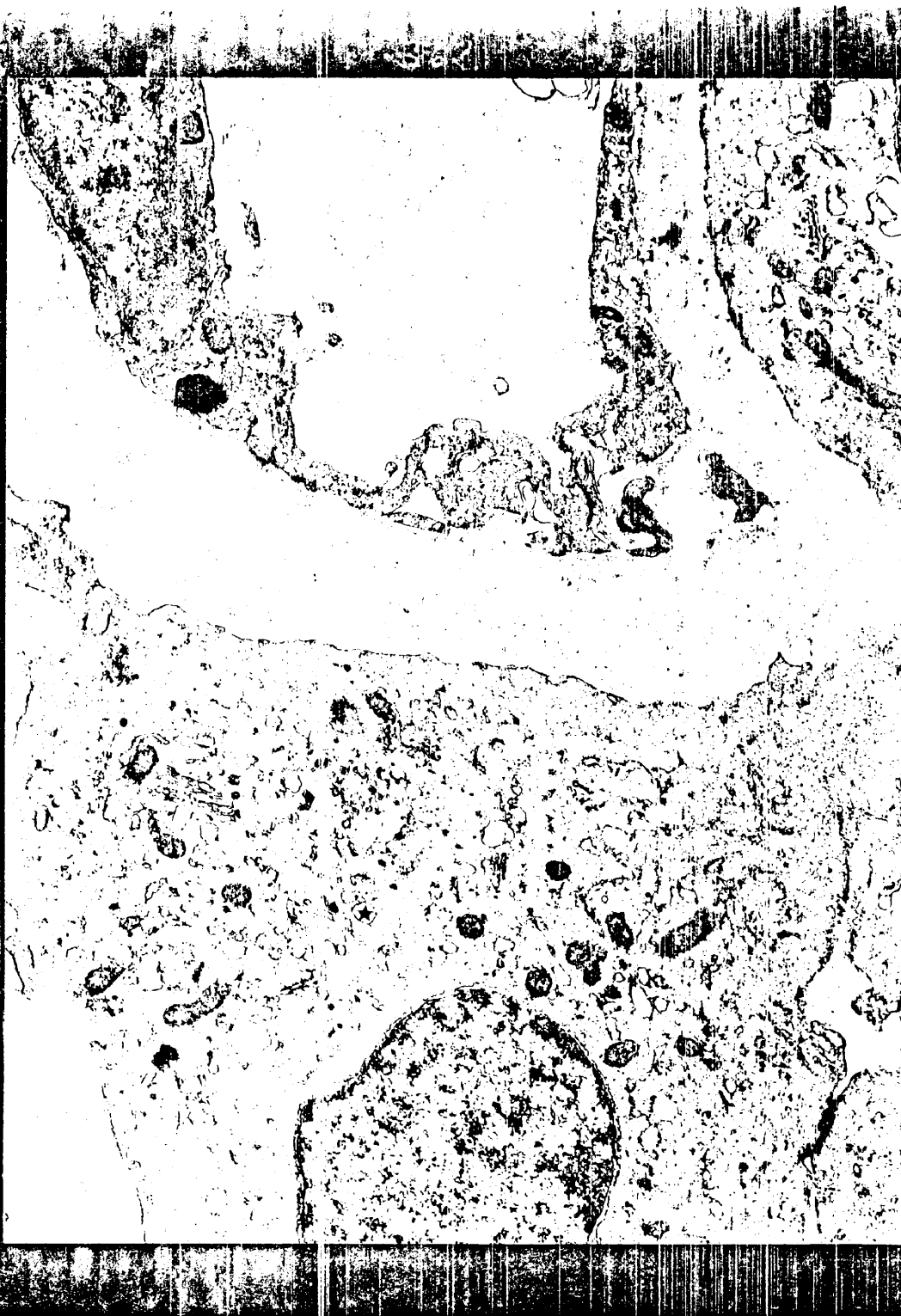


Foto 51..-Imagen de los estratos profundos de la estria vascular. Las células basales de revestimiento exhiben inclusiones de aspecto lipóideo que en ocasiones (asterisco) pueden deformar los contornos de las células. (Kanamicina, 15 días, 3^a espira). x 23.000.



Foto 52.- Imagen de la capa superficial de la estria vascular, en la que se puede observar una inclusión redondeada y limitada por un área mas densa y finamente estriada (asterisco). (Kanamicina, 15 días, Vértice).
x 35.000.

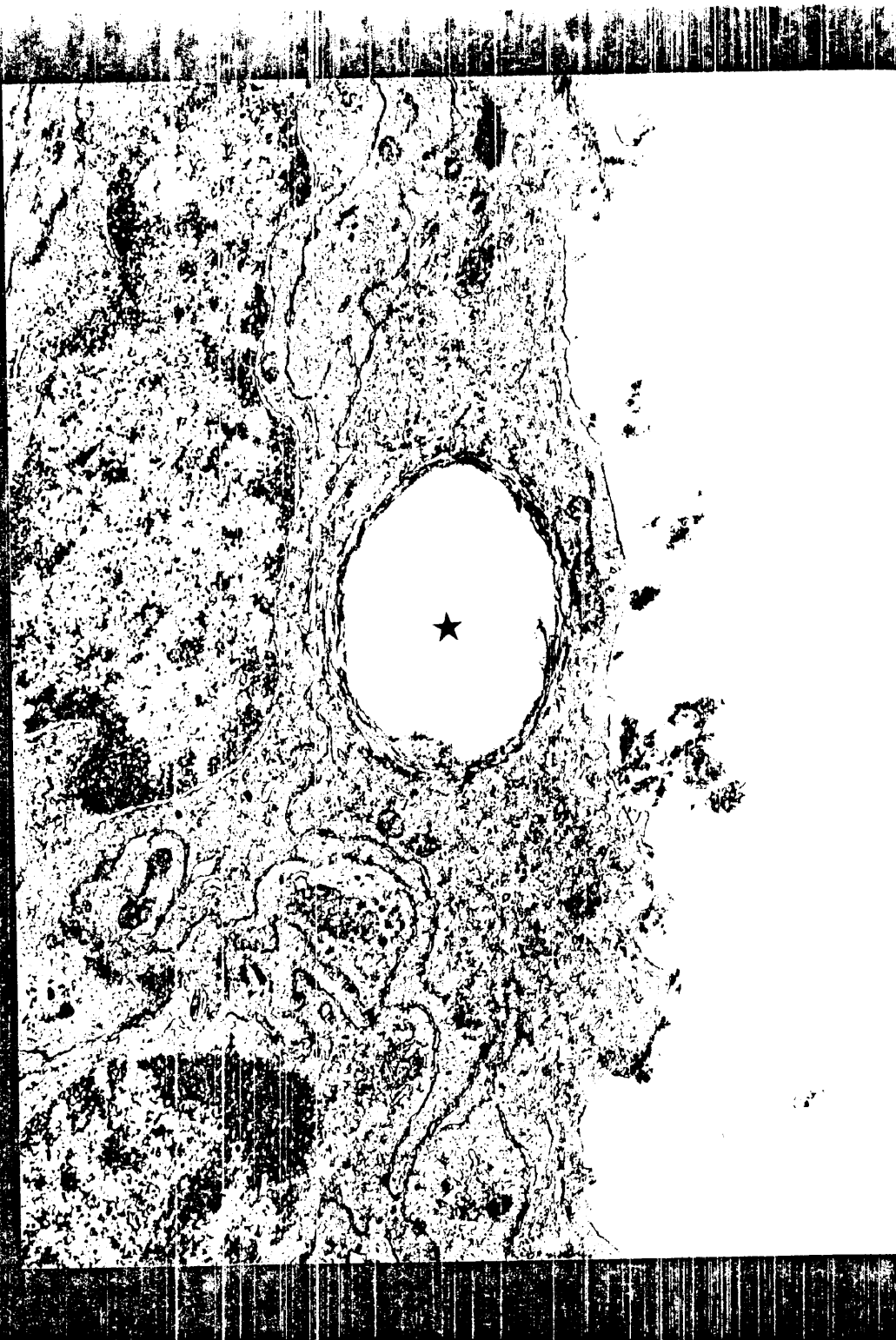


Foto 53. - Detalle de un capilar situado a nivel de la membrana basilar. Puede observarse la gran irregularidad de la superficie interna del endotelio, así como la existencia de abundantes vesículas de micropinocitosis (flechas). (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 36.000.



Foto 54.- Imagen de la capa de células que reviste la cara timpánica de la membrana basilar. La célula ilustrada, presenta en su interior material grumoso denso, envuelto por membranas. (Kanamicina, 15 días, 3^a espira). x 36.000.

Foto 55.- Imagen de la membrana de Reissner. La cara bañada por perilinfa (P) muestra amplias soluciones de continuidad. La cara en contacto con la endolinfa (E) presenta diferencia de densidad electrónica de los citoplasmas de sus células, siendo las células mas oscuras (A) mas delgadas que las mas claras (B). En conjunto se puede observar dilataciones de los sáculos del retículo y un cuerpo de densidad electronica, similar a la de la grasa (asterisco). (Kanamicina, 15 días, Vértice). x 7.000.

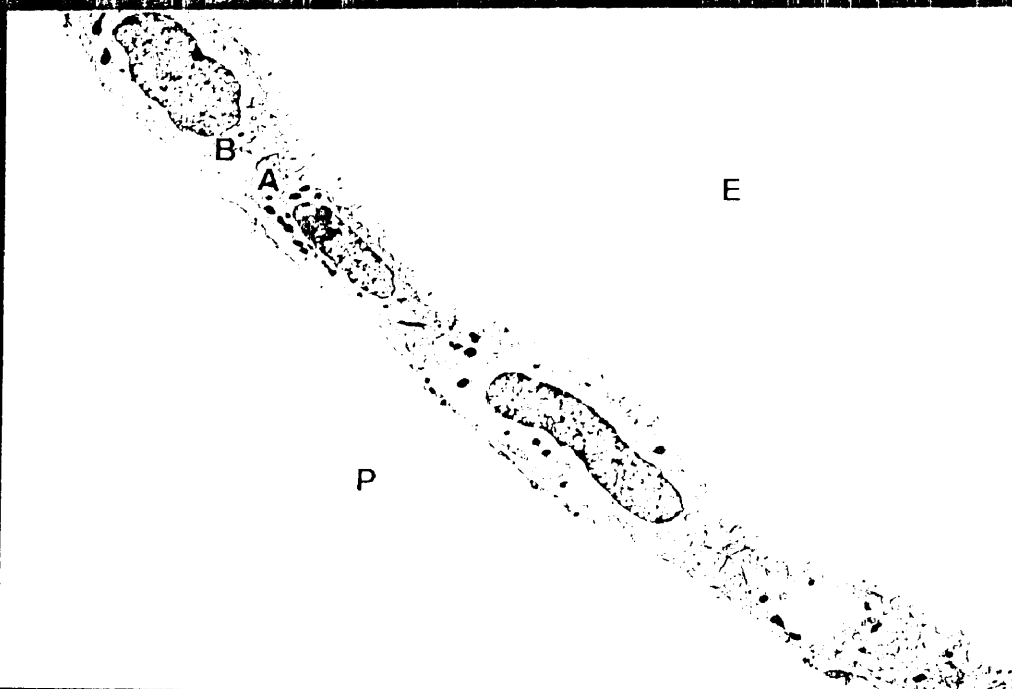


Foto 56.-Imagen de células interdentes, situadas en espiras altas de la coclea. Obsérvese la gran dilatación del intersticio canalicular de las células interdentes (asteriscos), así como la amplia relación entre estos y el eje o corion limbico a través de la membrana basal (flechas). Las células presentan aumento de densidad electrónica de su citoplasma.

En la zona superficial del limbo se observan reparación de la tectoria (T) , asociada a áreas de disolución de la misma. En estas áreas pueden observarse abundantes cuerpos densos intratectoriales. (Kanamicina, 30 días, Vértice).
x 12.000.

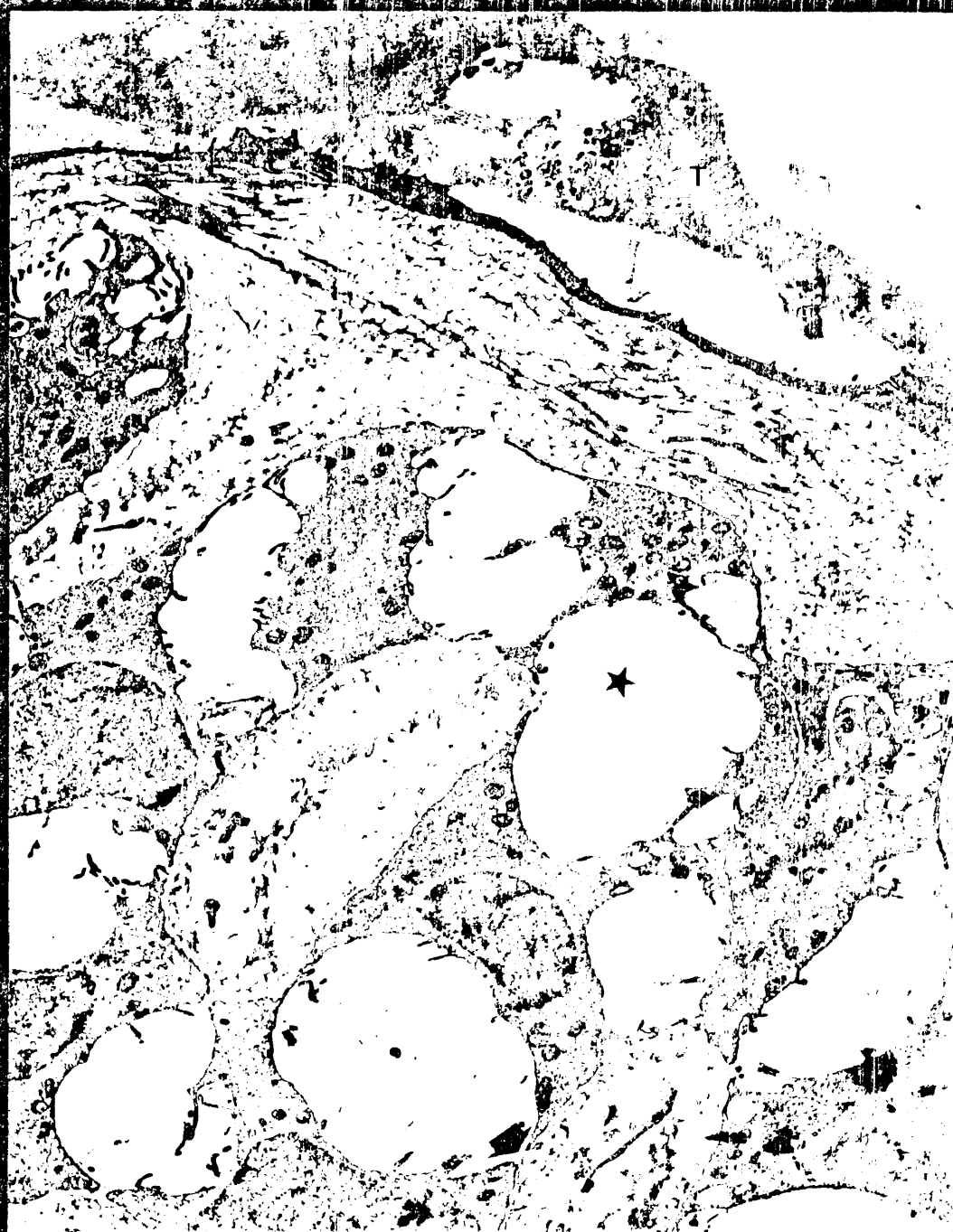


Foto 57.-Imagen de un grupo de células interdetales, en la que destaca la aparición de inclusiones lipídicas (L) . Es muy prominente la situada en el área mas apical, que empuja y adelgaza el citoplasma a este nivel. (Kanamicina, 30 dias, Basal). x 12.000.



Foto 58.- Detalle de un vaso del eje fibrilar del limbo espiral interno. Destaca la finura del endotelio, el que sin embargo, presenta gran cantidad de vesículas pinocitóticas. Notese la gran densidad electrónica de la célula endotelial, así como su forma extremadamente redondeada. En el halo perivascular, donde aparecen múltiples prolongaciones de las células del limbo, que tienden a abrazar el vaso se observan cuerpos densos irregulares, así como restos de organelas y membranas (flecha). (Kanamicina, 30 días, 3ª espira). x 12.000.

Foto 59.-Detalle del polo apical de una célula ciliada interna, en la que se observa una profunda alteración de todos sus elementos. La forma de la cutícula es extremadamente irregular y su diámetro menor de lo normal. La densidad electrónica de la cutícula es algo menor de lo normal observándose más resaltadas las condensaciones radiculares. La célula marginal próxima (CM) muestra algún cuerpo denso con área densa periférica y área central de densidad lipóidea. (Kanamicina 30 días, 3ª espira). x 24.000.

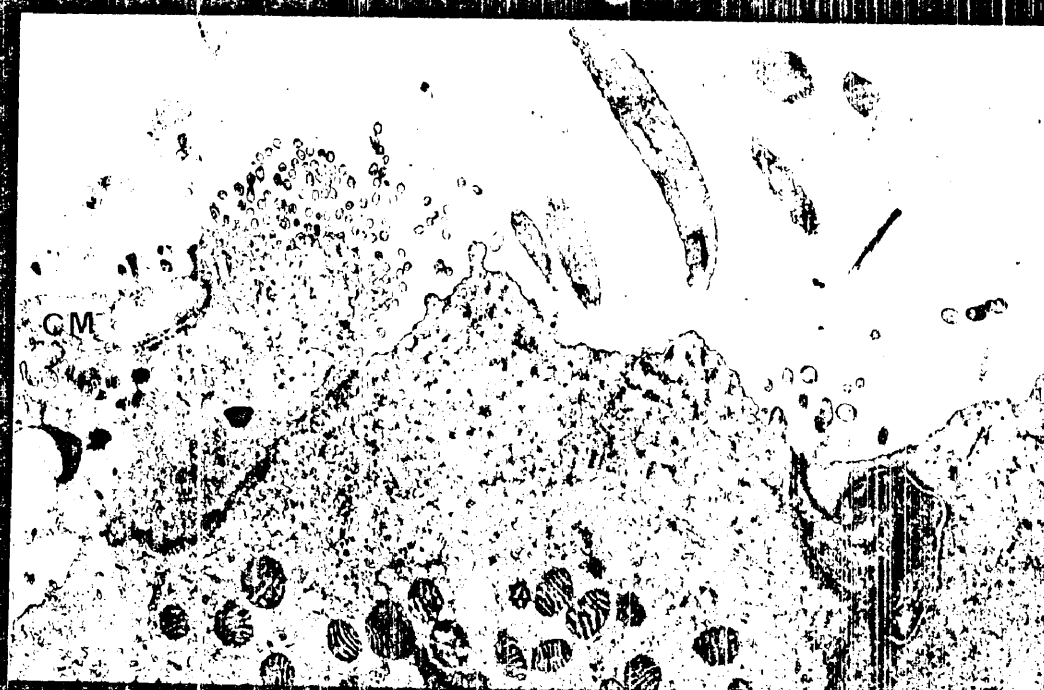


Foto 60..-Imagen de una célula ciliada interna localizada en la segunda vuelta de la coclea. Se observan cuerpos lamelares (flecha) y cuerpos densos con componente microvesicular (asterisco). (Kanamicina, 30 días, 3^a espiro).
x 28.000.

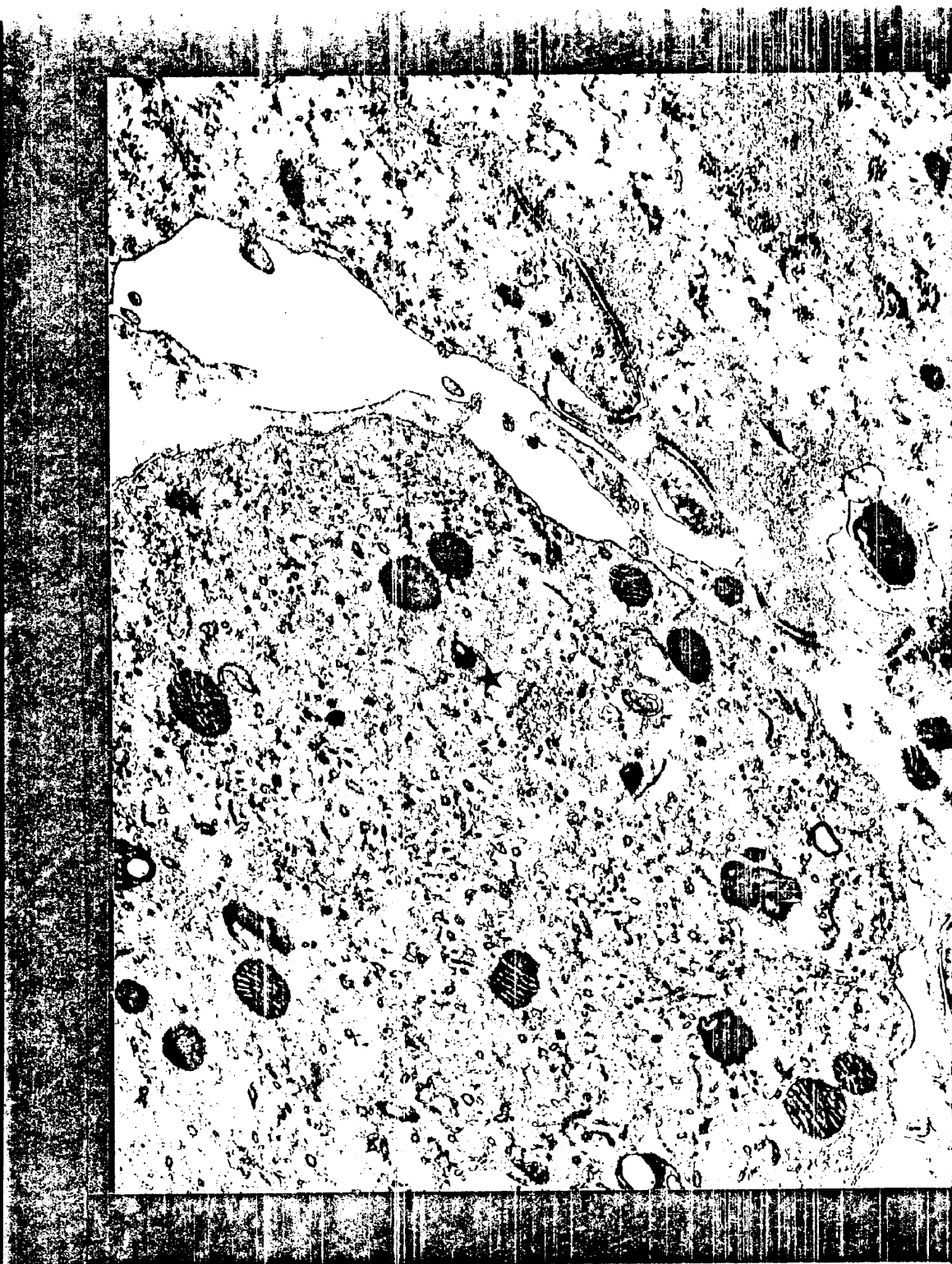


Foto 61.-Imagen de la articulación apical de los pilares del órgano de Corti. La trayectoria de los componentes fibrilares de estas células se ve modificada por la aparición de vacuolizaciones citoplásmicas. La condensación capital exhibe algunas pequeñas áreas de disolución. (Kanamicina, 30 días, 3^a espira). x 9.000.



Foto 62.- Imagen del área de las células ciliadas externas, donde se observa vacuolización citoplásmica. En el área apical se observan irregularidades de las cutículas, así como cuerpos densos y lipoideos envueltos por membrana (flecha). (Kanamicina, 30 días, 2^a espira). x 4.900.

Foto 63.-Detalle de un penacho ciliar del área externa. Notese la irregularidad de los contornos de los cilios, así como la disolución parcial de algunos de ellos. (Kanamicina, 30 días, 2^a espira). x 56.000.



Foto 64.- Imagen del area externa del órgano de Corti, tomada del nivel basal de la coclea. Observese la mayor afectación de la hilera mas externa respecto a la mas interna. En conjunto se aprecia una relativa preservación de todos los penachos ciliares, aunque algunos han perdido su rigidez. (Kanamicina, 30 dias, 2^a espira). x 9.500.

Foto 65.-Imagen panorámica de la segunda vuelta del caracol. Las perdidas de penachos ciliares completos es evidente en la hilera mas externa (Kanamicina, 30 dias, 2^a espira). x 1.500.

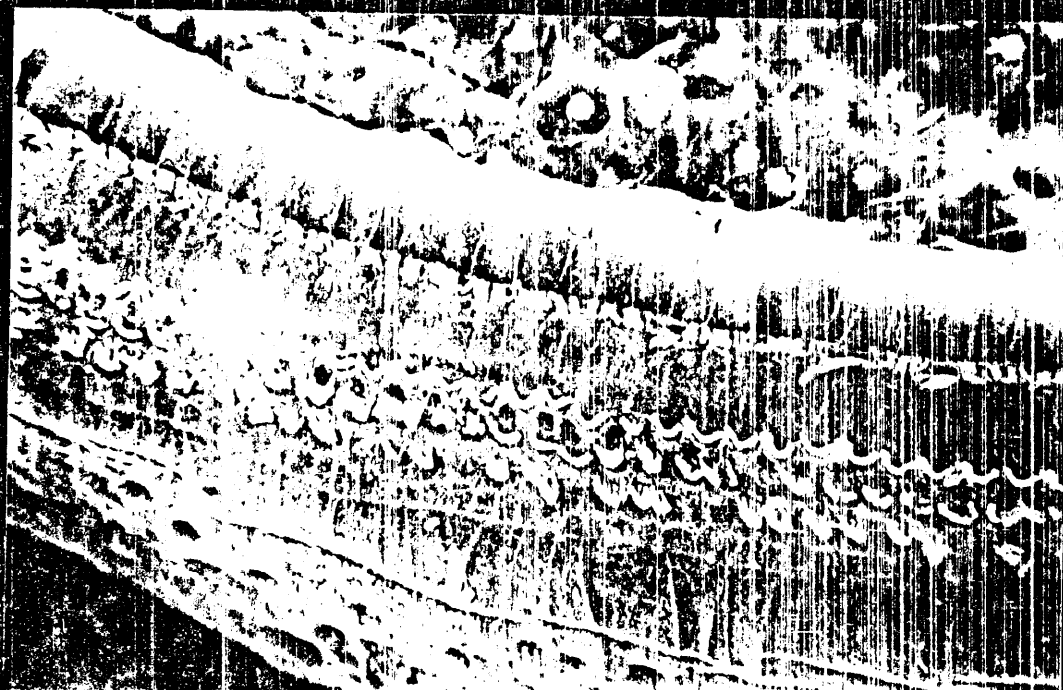
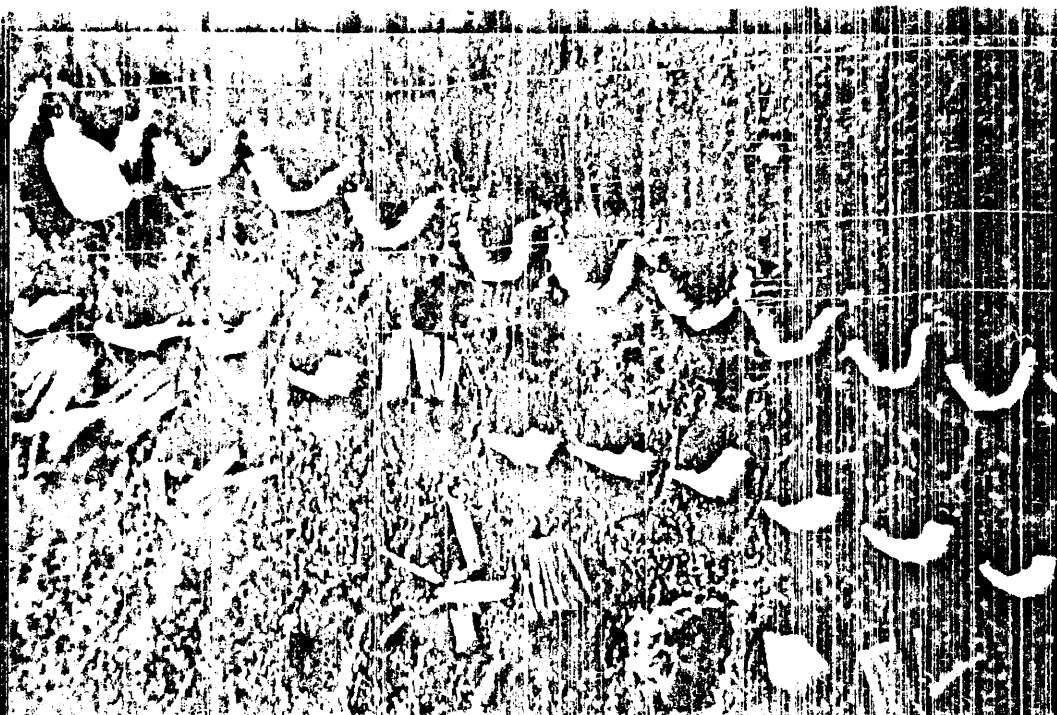


Foto 66..-Detalle de una célula de Deiters externa, que presenta una visible alteración estructural. La alternancia de áreas densas y claras del citoplasma, le confieren aspecto aplanado. Este dato junto con lo irregular de su contorno y la aparición de inclusiones citoplasmicas le prestan un aspecto claramente lesional (CL). Las células proximas no muestran cambios tan intensos en su estructura (CD). (Kanamicina, 30 días, 3^a espiro). x 18.000.

Foto 67..-Imagen de una célula del corion de la pared externa de la escala media. Notese la gran inclusión citoplasmica, que presenta un área de densidad electrónica similar a la de la grasa y otro formado por tractos densos de fina estriación. (Kanamicina, 30 días, 2^a espiro).

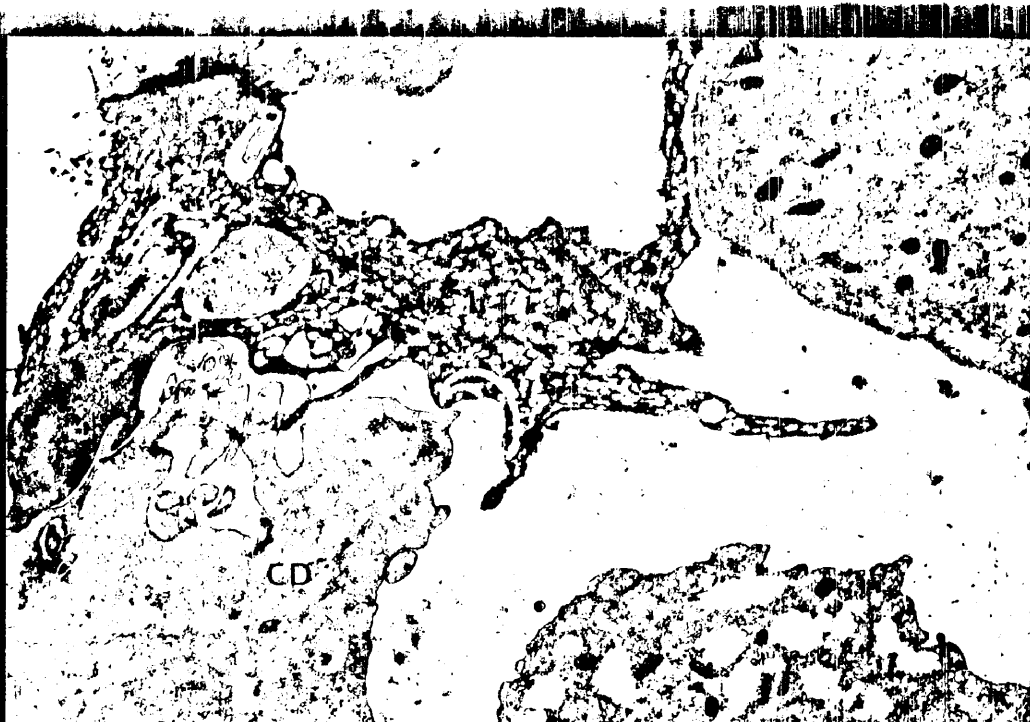


Foto 68.- Imagen de la membrana basilar, tomada a su paso por los pilares externos. Obsérvese la presencia de dilataciones vacuolares y cisternales en las células de recubrimiento timpánico, así como la gran cantidad de microvesículas. (Kanamicina, 30 días, 2ª espira). x 23.900.

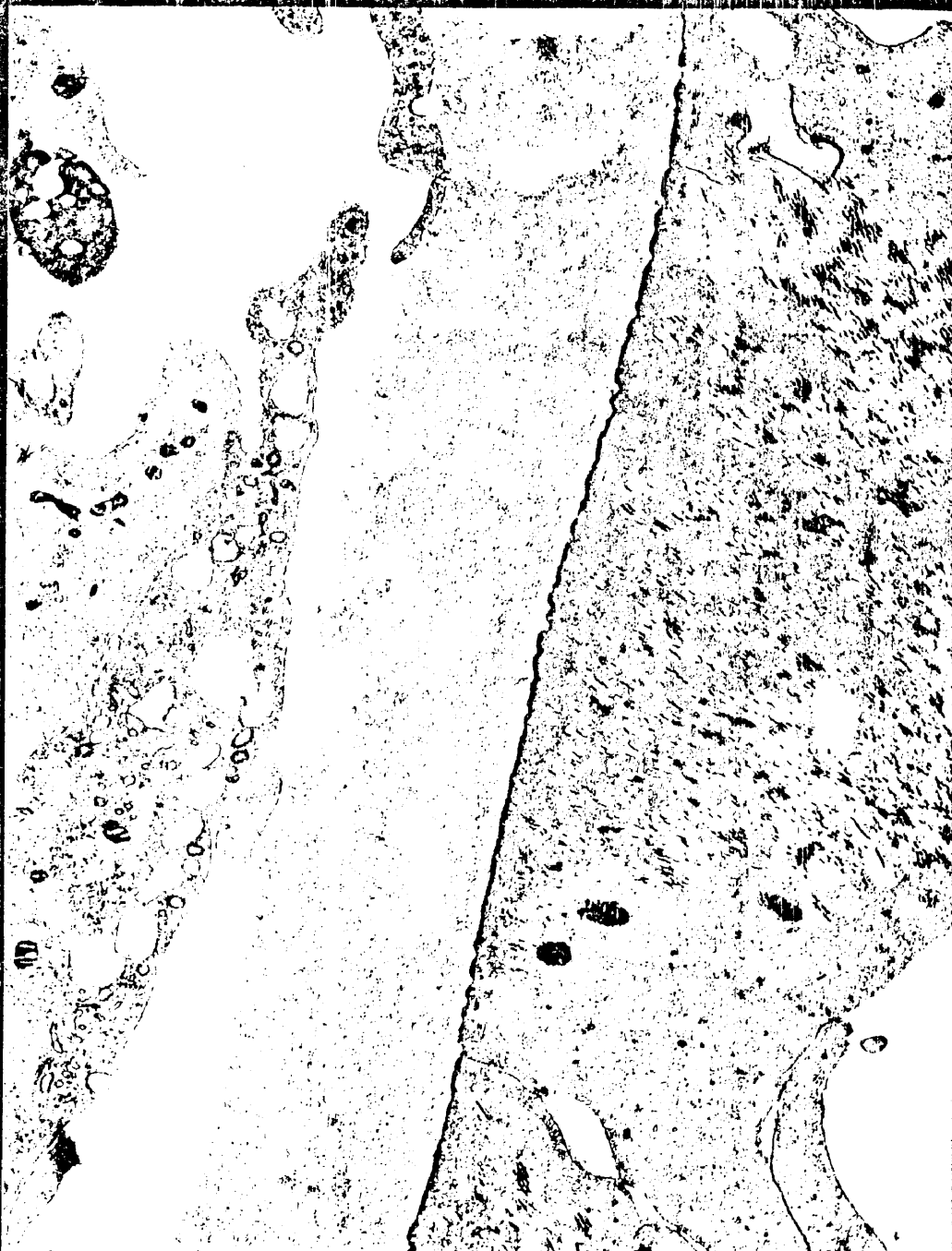


Foto 69.-Detalle de un capilar, situado en el seno de la membrana basilar. La cara interna del endotelio muestra excrecencias e irregularidades. El citoplasma endotelial es rico en microvesículas y posee cuerpos multivesiculares (flecha). (Kanamicina, 30 días, 2^a espira). x 21.000.

Foto 70.- Imagen de una zona superficial del limbo espiral. Obsérvese la gran densidad citoplasmica de las células interdentales, así como la gran dilatación de los canalículos intersticiales. Estos elementos presentan por esta causa una mayor relación con el corion limbico (flechas). (Gentamicina, 7 días, 3^a espira). x 12.000.



Foto 71. - Células estrelladas del corion interno. El halo pericelular es poco manifiesto y las células se encuentran mas juntas entre si. (Gentamicina, 7 dias, 2^a espira).
x 12.000.

Foto 72. -Región de las células ciliadas internas. Las células ciliadas internas (I) muestran un pozo cuticular (C) estrechado y su densidad electrónica disminuida. Se mantienen las uniones con las células de Deiters internas (D) y pilar interno (P). La parte apical de la célula marginal (M), contiene gran cantidad de cuerpos osmiófilos (L).
(Gentamicina, 7 dias, Vértice). x 12.000.

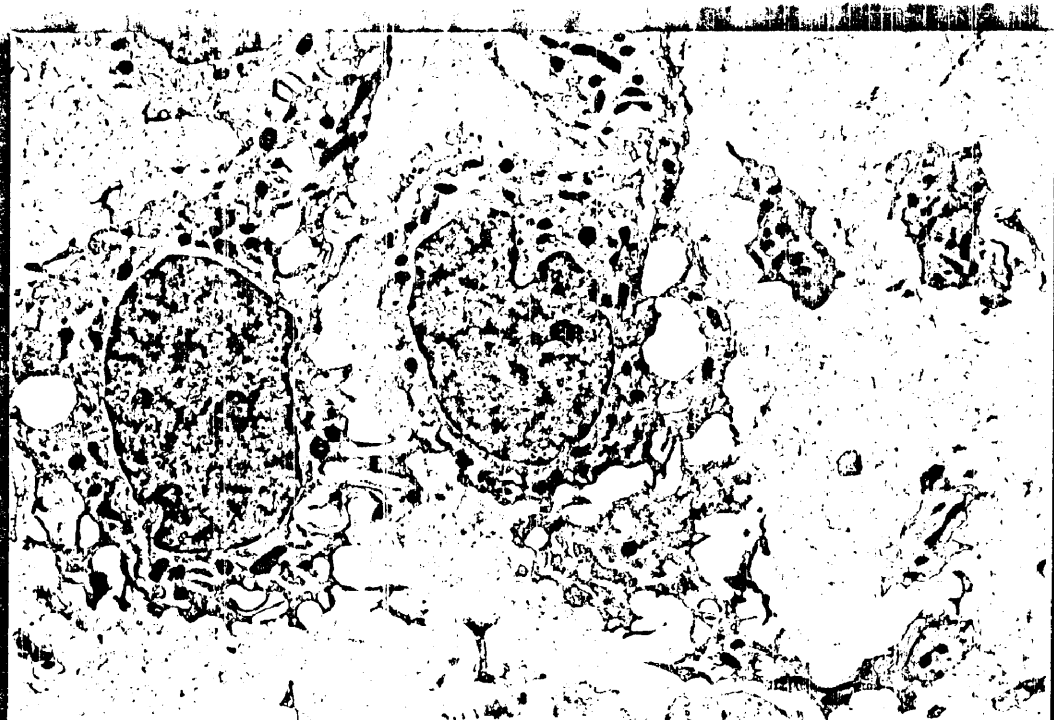


Foto 73.- Región interna. Las células ciliadas internas (I) de cutícula (C) clara, muestran los elementos ciliares (Ci) de contorno irregular y parte de su contenido expulsado al exterior. En un extremo sale una excrecencia a modo de microvilli (asterisco) pediculado de centro claro. D, célula de Deiters interna. M, marginal. (Gentamicina 7 días, 3^a espira). x 38.000.

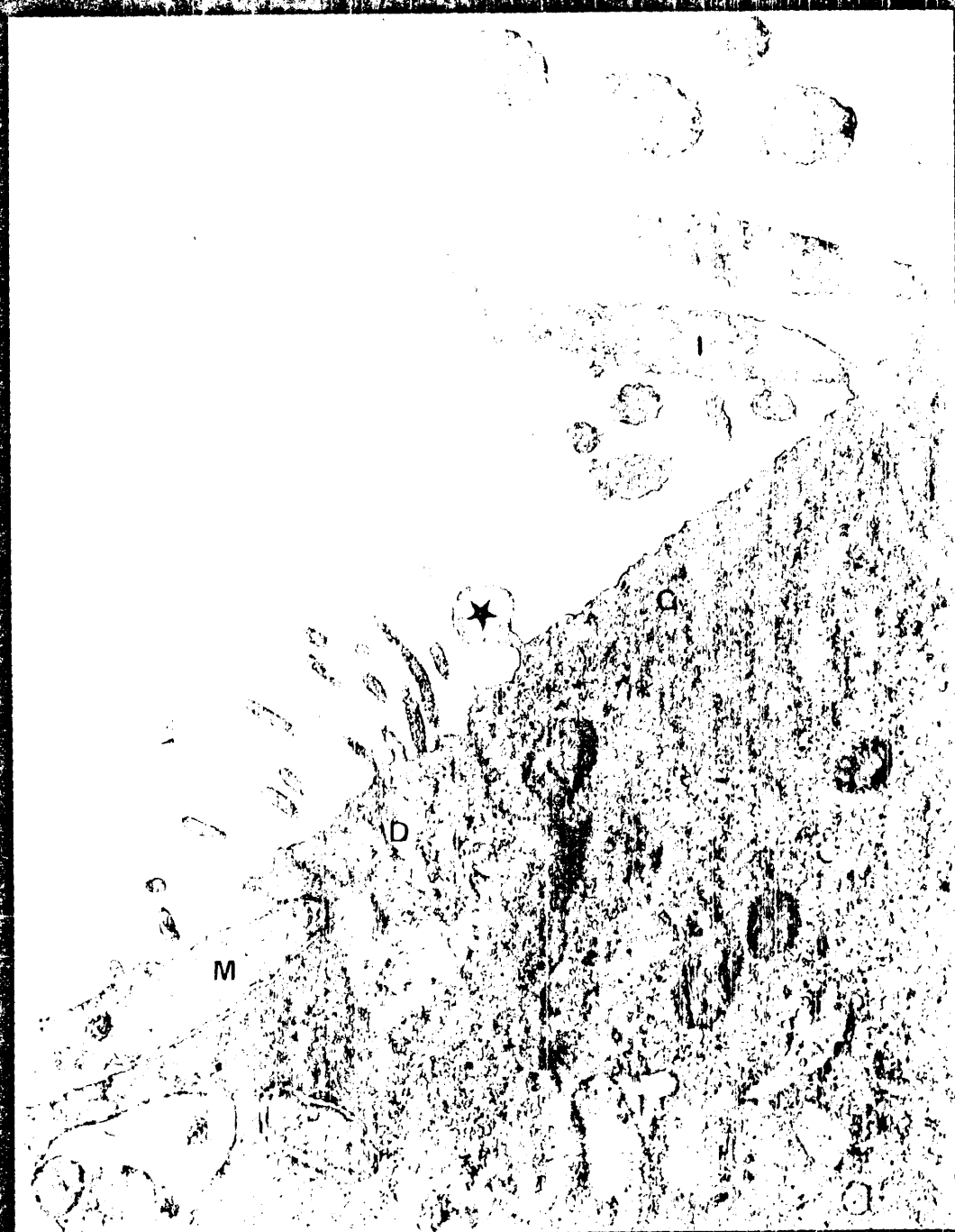


Foto 74.-Célula ciliada interna (I) cuyos elementos ciliares (Ci) de contorno irregular se funden con los estereocilios adyacentes. La superficie cuticular de estas células muestra un contorno irregular y se observan raíces ciliares (flechas). (Gentamicina, 7 días, Vértice). x 32.000.

Foto 75.-Microscopia electrónica de barrido de la superficie de la región interna. Las células ciliadas internas (I) muestran perdidas segmentarias de elementos ciliares (flechas) con pérdida de rigidez ciliar y caída de los mismos sobre la superficie endolinfática. M, células marginales. P.I. pilar interno. (Gentamicina, 7 días, Vértice). x 9.000.

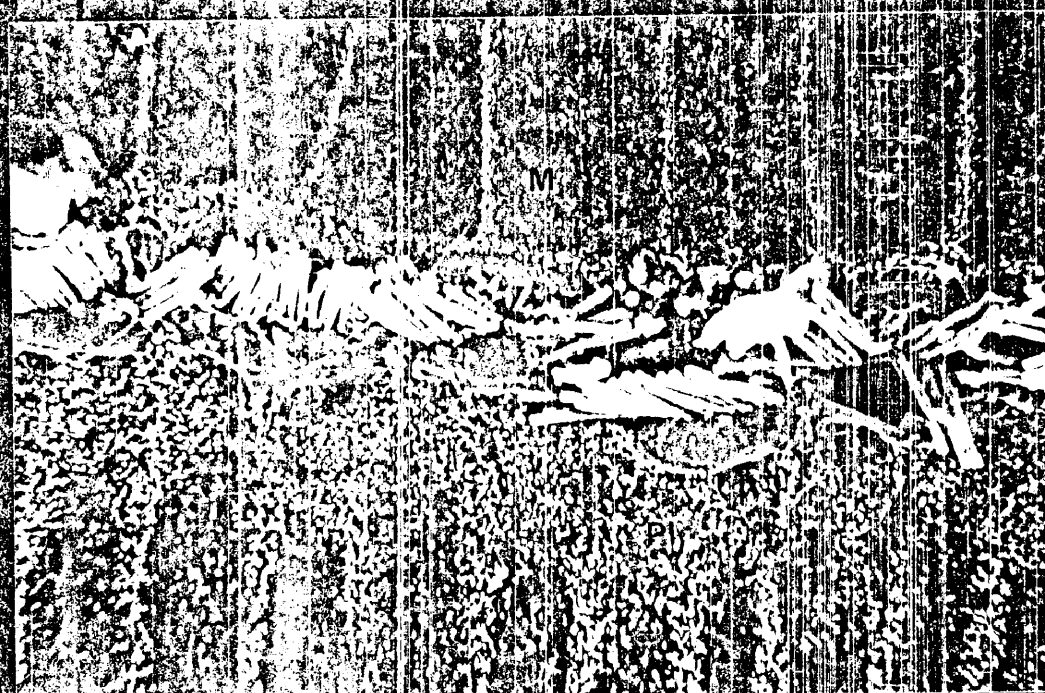
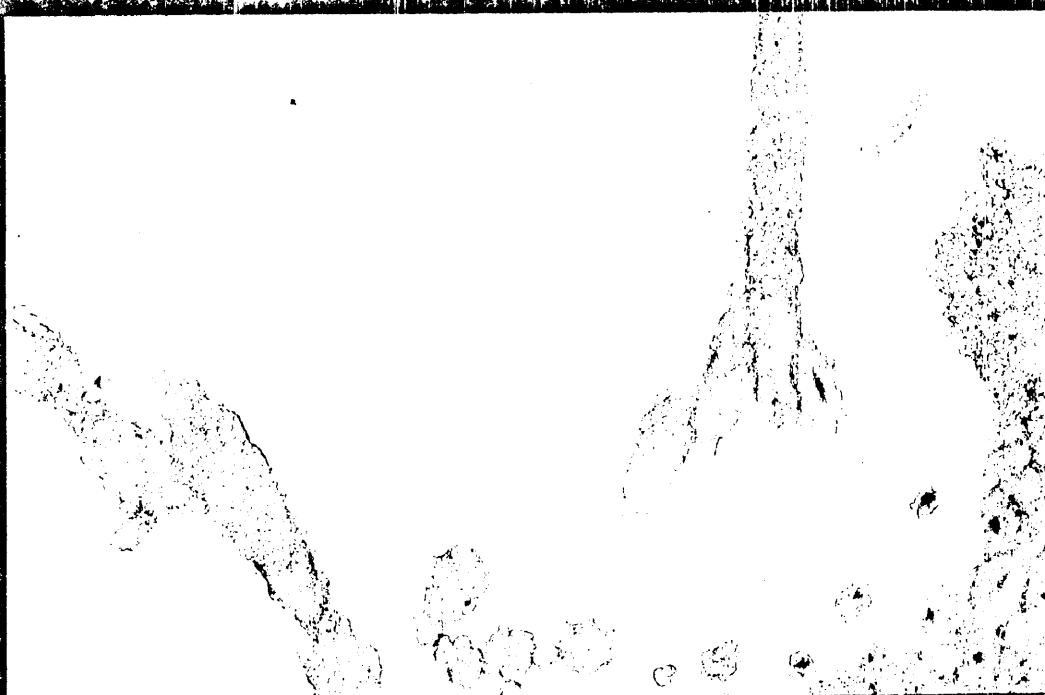


Foto 76.- Imagen tomada de células ciliadas externas situadas en los niveles mas altos de la coclea. Notese las dilataciones de los sistemas fenestrados, las lagunas claras que se observan en las cutículas (C) y el material cuticular existente a distintos niveles de la célula. (Gentamicina, 7 dias, 3^a espira). x 6.000.



Foto 77.- Imagen obtenida a nivel de la segunda espira coclear. Las pérdidas de rigidez ciliar son más manifestadas en las hileras más externas de células ciliadas. En conjunto la hilera más afectada es la tercera. Las células ciliadas internas se encuentran indemnes. (Gentamicina, 7 días, 3ª espira). x 900.

Foto 78.-Detalle de la región sensorial externa que muestra pérdidas ciliares completas en las tres hileras, si bien estas pérdidas son de una sola célula aislada en la primera y segunda hilera y de segmentos completos en la tercera. Notese además, la pérdida de rigidez que muestran estos elementos. (Gentamicina, 7 días, Vertice). x 7.000.

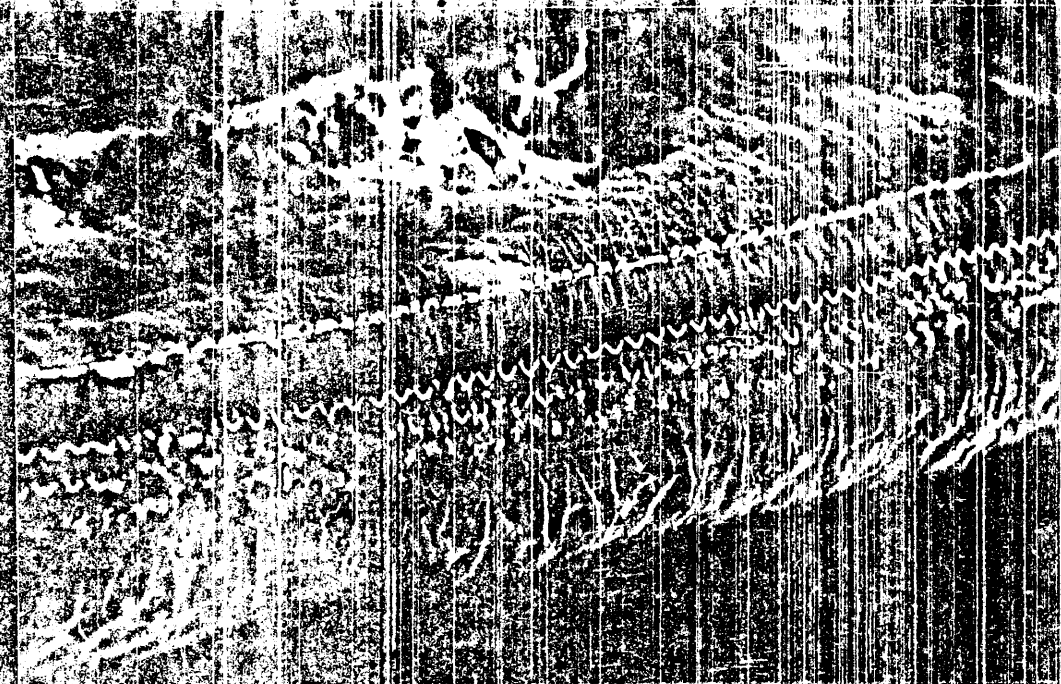


Lámina LXV

401

Foto 79.-Imagen correspondiente a las células de Deiters de la región externa. Notese la gran densidad hialoplas- mica de uno de estos elementos, que, sin embargo, conser- va un grueso haz de microtúbulos. El núcleo es irregular, contrastando con el de las células proximas, mas redon- deado. (Gentamicina, 7 dias, 2^a espira). x 9.600.



Lámina LXVI

403

Foto 80..-Imagen del corion, situado en la pared externa de la escala media. Notese la existencia de una gran inclusión citoplasmica con área anhistica clara y densa. (Gentamicina, 7 dias, Basal). x 28.000.

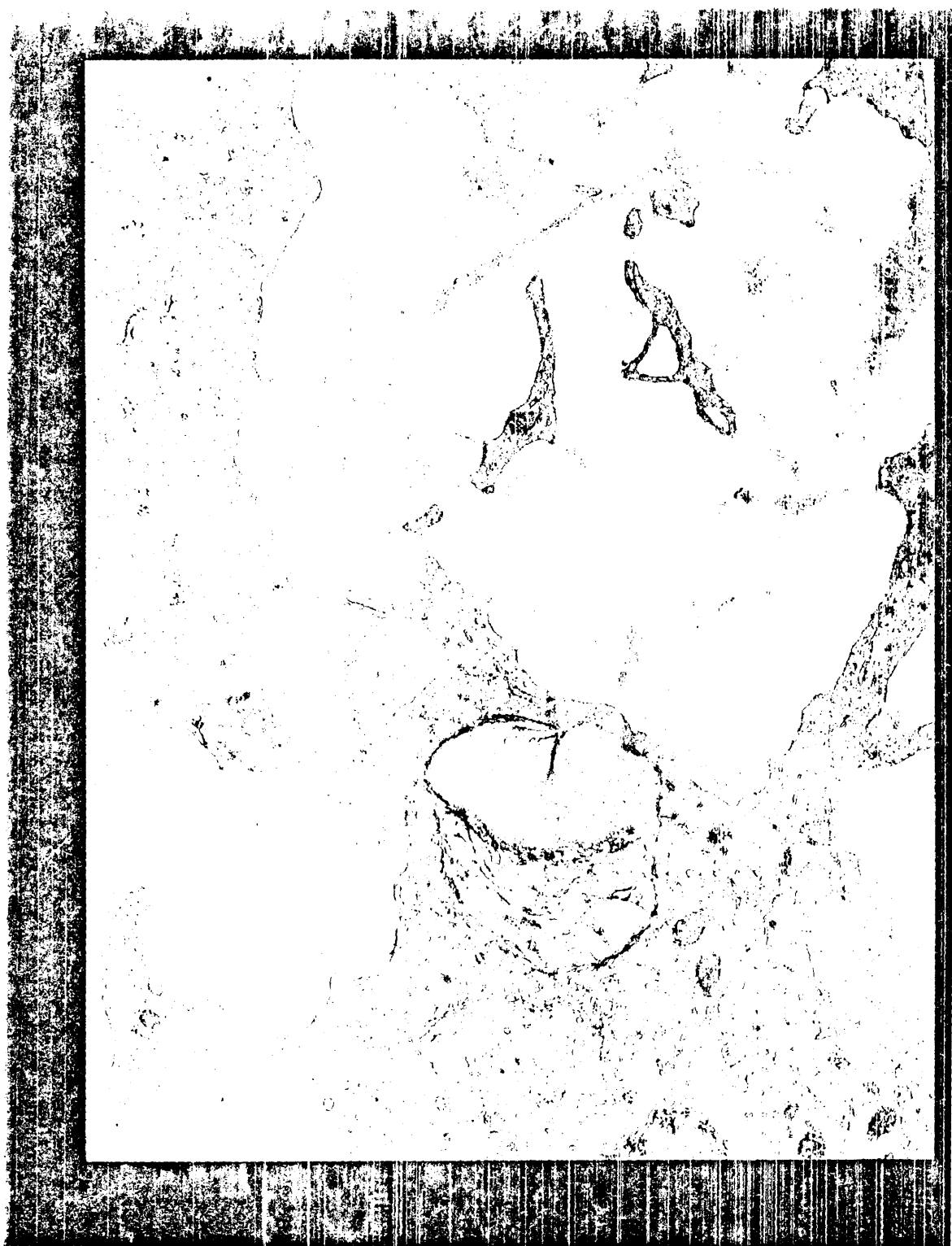


Foto 82..-Imagen de un vaso del corion externo. La cara externa de la célula endotelial muestra profundas excavaciones , que se acompañan en ocasiones con la aparición de pilas de cisternas (flecha). Obsérvese la disposición perivascular de las prolongaciones de las células. (Gentamicina, 7 días, Basal). x 35.000.



Foto 82.-Vaso situado en el espesor de la membrana basilar. Se observan cisternas en mayor proporción de lo habitual y vesículas de micropinocitosis. (Gentamicina, 7 días, 3^a espira). x 28.000.



Lámina LXIX

409

Foto 83.- Imagen tomada del tercio interno del limbo es-
piral. Las células interdentes presentan dilatación
de los canalículos. Las relaciones entre estos y el eje
del limbo son muy amplias. Notese la gran densidad celu-
lar del corion de este area. (Gentamicina, 15 dias, 3^a
espira). x 6.000.



Lámina LXX

411

Foto 84.-Complejo de células mitradas (M), en íntima relación con las células del surco interno (S.I.). Muestran inclusiones lipídicas (L). La membrana basal (flechas) se mantiene íntegra en todo su recorrido . (Kanamicina, 15 días, Basal). x 14.400.

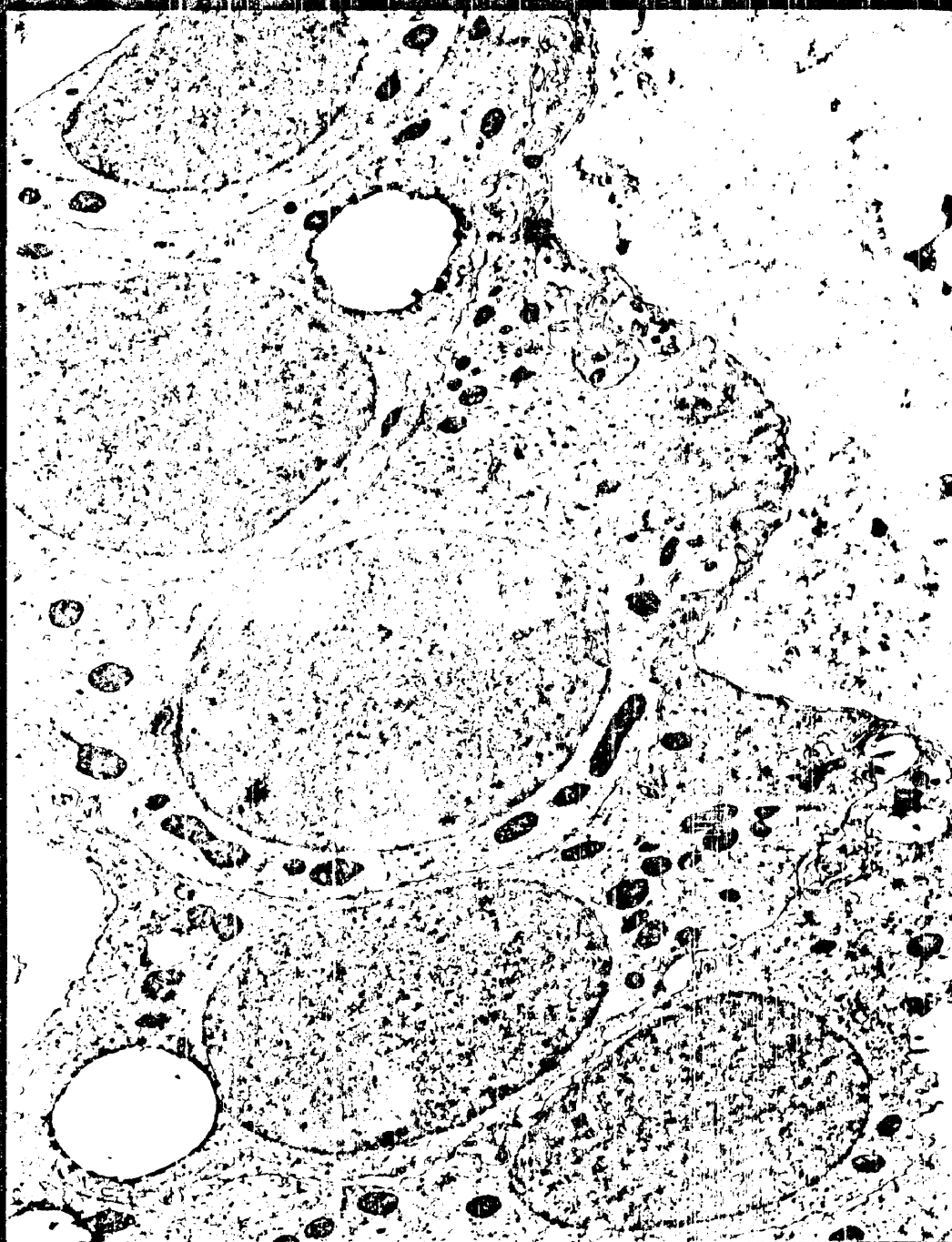


Foto 85.- Región del limbo espiral a nivel del labio vestibular. Las células mitradas (M) muestran cuerpos osmiófilos (flechas) en las células que se encuentran en relación con las del surco espiral interno (S.I.) (Kanamicina, 15 días, Basal). x 23.400.



Foto 86.- Región del limbo espiral interno a nivel del corion interno. Los vasos a este nivel presentan gran cantidad de vesículas de micropinocitosis (flechas). (Kanamicina, 15 días, 2^a espira). x 25.900.

Foto 87.- Región de las células ciliadas internas. Las células ciliadas internas (I) muestran una cutícula irregular, y las prolongaciones falángicas de las células de Deiters internas presentan unas protrusiones hacia la rampa coclear, con membranas en su interior (flechas). (Gentamicina, 15 días, 3^a espira). x 11.800.

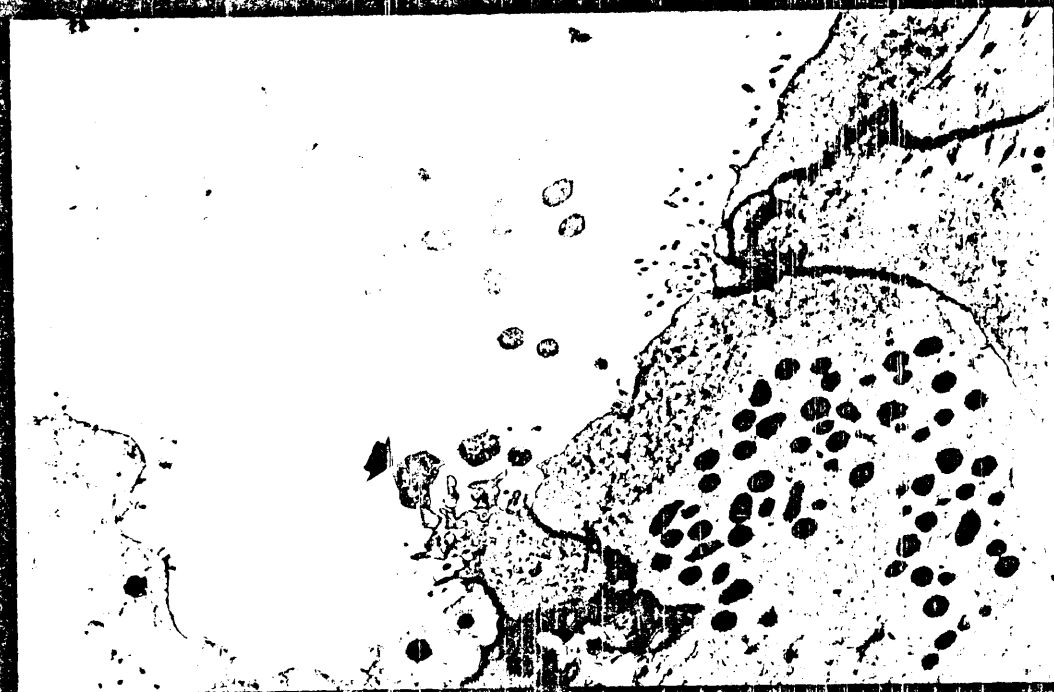


Foto 88.-Célula ciliada interna (I) cuya cutícula muestra una disminución de la densidad electrónica. Notese como uno de los cilios es de grosor mayor de lo habitual. El citoplasma presenta gran cantidad de microtúbulos y microfilamentos (flechas). (Gentamicina, 15 días, 3^a espira).
x 28.000.

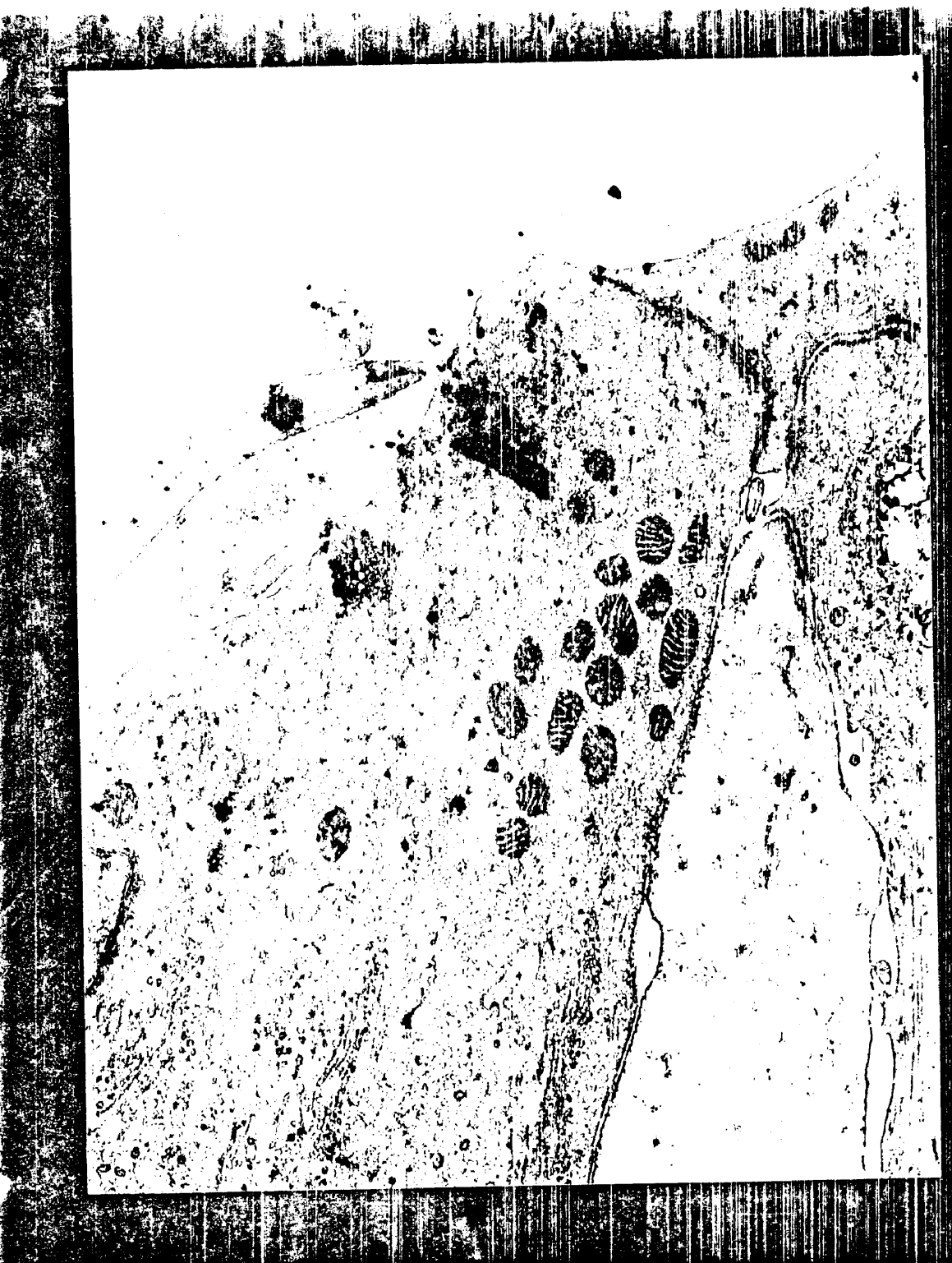


Foto 89.-Región de las células ciliadas internas. Los cilios internos con raíz ciliar manifiesta, muestran una angulación de aproximadamente 90° en la zona de afloramiento al espacio endolinfático (flechas). Las células marginales (M) contienen algún lisosoma (L) en la parte apical de las mismas. (Gentamicina, 15 días, 2^a espira). x 13.000.

Foto 90.- Microscopia electrónica de barrido de la región interna. Los cilios han perdido sus características habituales, arrollándose sobre si mismos (asterisco) y formando masas irregulares de material grumoso (flecha) . El numero de estos elementos es menor del habitual y algunos se encuentran disminuidos de tamaño . (Gentamicina, 15 días, Vértice). x 14.500.

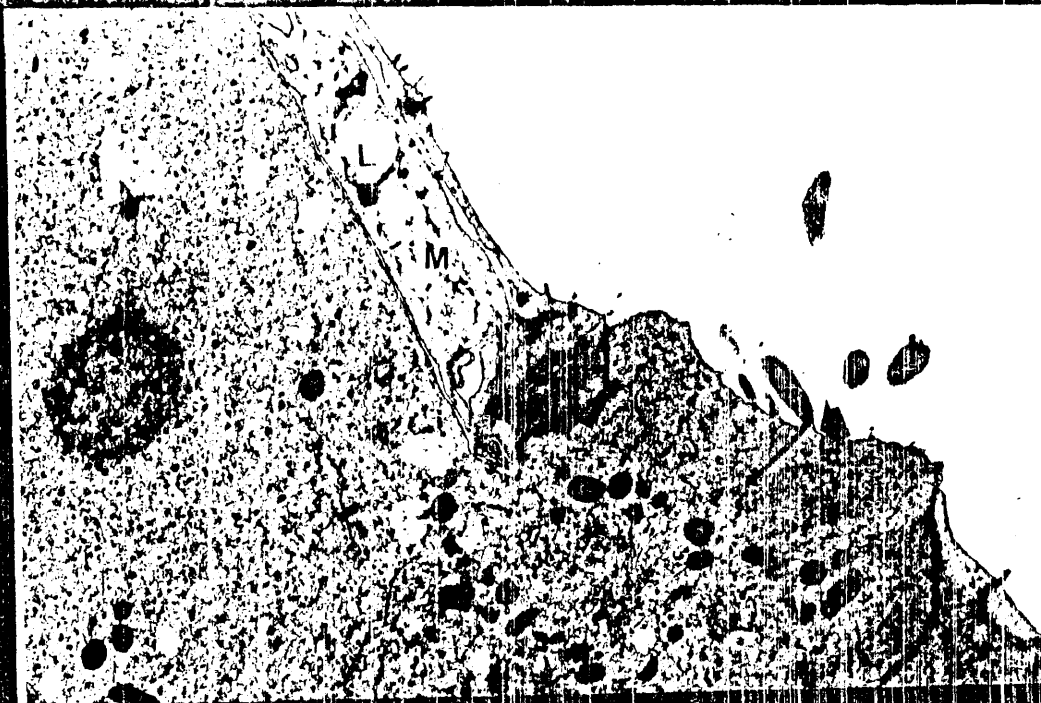


Foto 91.-Porción superior de pilar externo. El número de microtúbulos que terminan en la condensación apical se encuentra disminuido en número, y algunos de ellos muestran un trayecto más tortuoso de lo habitual (flechas). (Gentamicina, 15 días, 2^a espira). x 15.000.

Foto 92.-Parte media o tallo de pilar externo donde se evidencia una falta de continuidad (asterisco) de los haces de microtúbulos que circulan a este nivel. En la parte derecha (asterisco) se observa una condensación de un material anhisto similar al de cuerpo vitreo de Held. (Gentamicina, 15 días, 3^a espira). x 28.000.

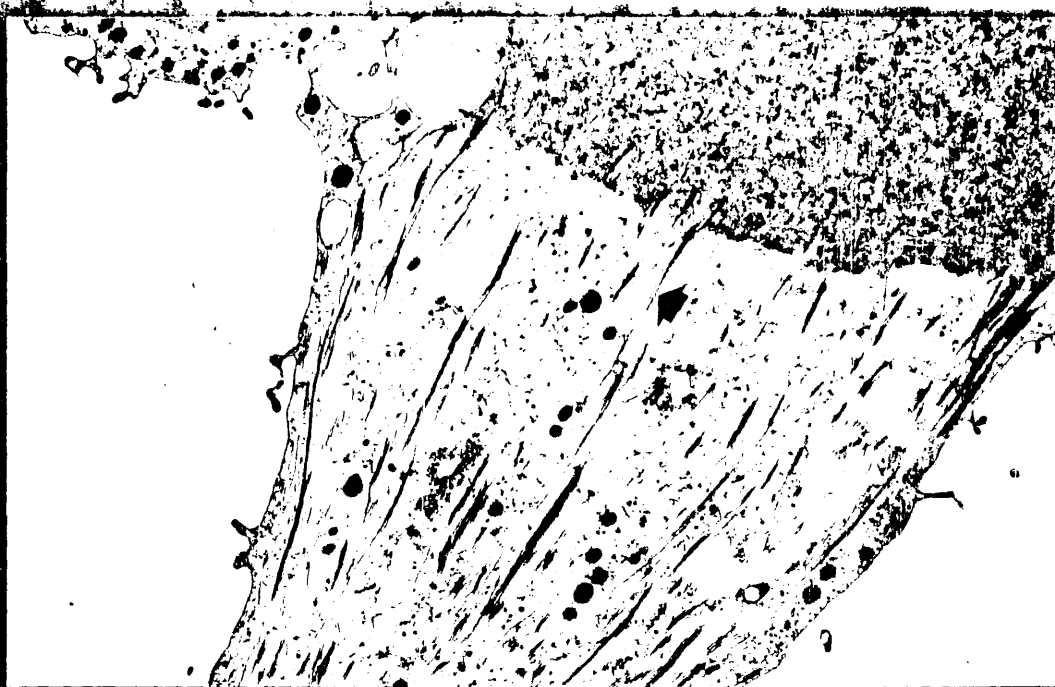


Foto 93.-Región de células ciliadas externas, cuyos elementos sensoriales presentan una cutícula (C) irregular, así como la forma de su citoplasma. Las membranas fenestradas ocupan en algunas áreas todo el espesor del citoplasma (asterisco) y los cuerpos de Hensen (H) se hacen evidentes en algunos puntos. (Gentamicina, 15 días, Vertice) x 4.800.



Foto 94.-Región de las células ciliadas externas, cuyos elementos ciliares se han cortado de través. La cutícula (C) muestra su borde inferior irregular con abundantes lisosomas (flechas) a este nivel. En la parte central de los cuerpos celulares se observa material cuticular (flechas largas). Algunas de estas células presentan gran cantidad de R.E. periférico (puntas de flechas). Las células de Deiters externas contienen espacios vacíos en el interior del citoplasma. (Gentamicina, 15 días, 3ª espora). x 2.800.



• Lámina LXXVIII

421

Foto 95.-Célula ciliada externa (E) con gran proliferación y dilatación del R.E.L. (Gentamicina, 15 días, 2^a espira). x 28.000.



Foto 96.-Polo apical de célula ciliada externa. La cutícula se encuentra disminuida en grosor y en situación subcuticular gran aumento y dilatación de R.E.L. y aparato de Golgi. (Gentamicina, 15 días, 2ª espira). x 28.000.

Foto 97.- Imagen en superficie de las tres hileras de células ciliadas externas. Las lesiones mas evidentes se observan a nivel de 2ª (2) y 3ª (3) hilera. Las perdidas ciliares son evidentes conservándose la zona de implantación ciliar (flechas). Todos los cilios han perdido su rigidez habitual y algunos presentan imágenes de fusión ciliar (asteriscos). La superficie cuticular muestra microvillis (flechas largas) en aquellas áreas de perdidas ciliares mas o menos evidentes. D, células de Deiters. (Gentamicina, 15 días, Vértice). x 9.800.

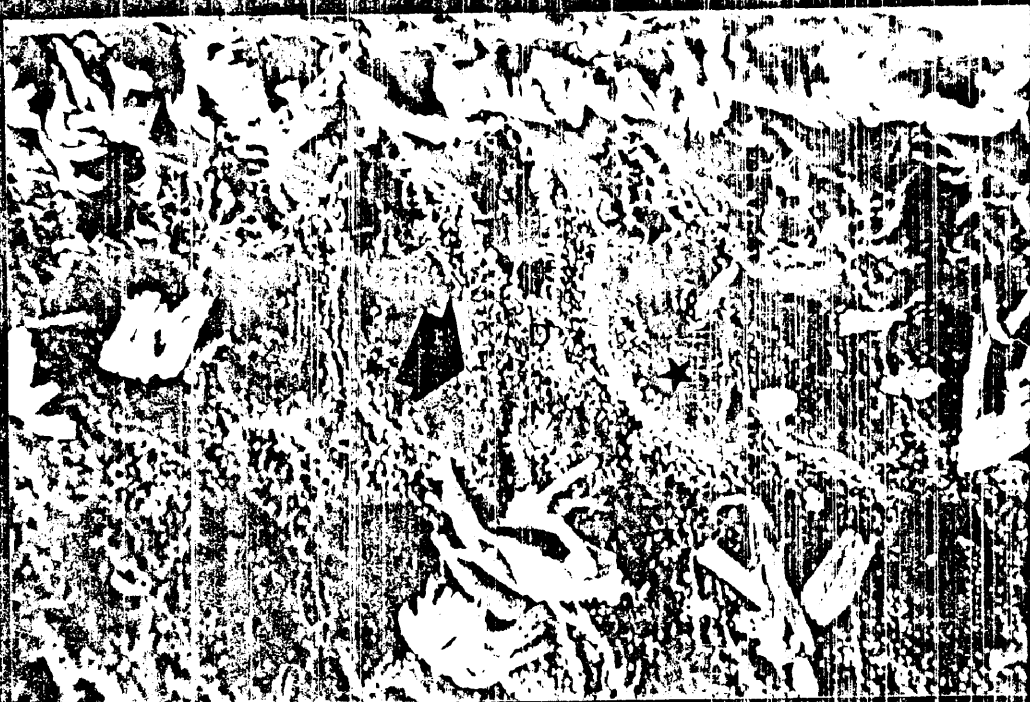
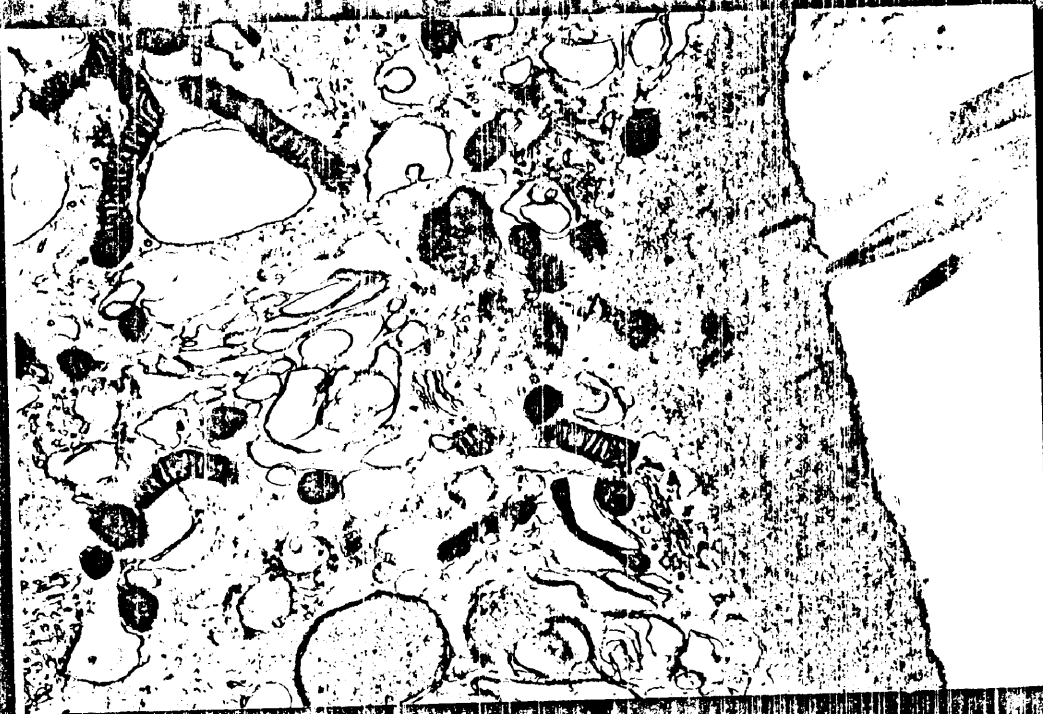


Foto 98.-Imagen con microscopia electrónica de barrido de la porción endolinfática de la región de las células ciliadas externas. Existen perdidas ciliares completas a nivel de 1^a (1) y 2^a (2) hilera, cuya superficie se ha cubierto completamente de microvillis (flechas). Los cilios restantes se encuentran disminuidos en número y algunos de ellos (asteriscos) caídos sobre la superficie endolinfática. D, células de Deiters. (Gentamicina, 15 días, Vértice). x 9.400.

Foto 99.-Imagen en superficie de dos células ciliadas externas. Una de ellas (asterisco) ha perdido completamente sus cilios y la cutícula aparece elevada hacia el espacio endolinfático. Quedan restos de raíces ciliares (flechas cortas) y algunos microvillis recubren la superficie (flechas largas). La otra célula ciliada ha perdido parte de sus elementos ciliares y los restantes se encuentran caídos sobre la superficie cuticular cubierta de microvillis (flechas largas). D, células de Deiters. (Gentamicina, 15 días, Vértice). x 12.500.

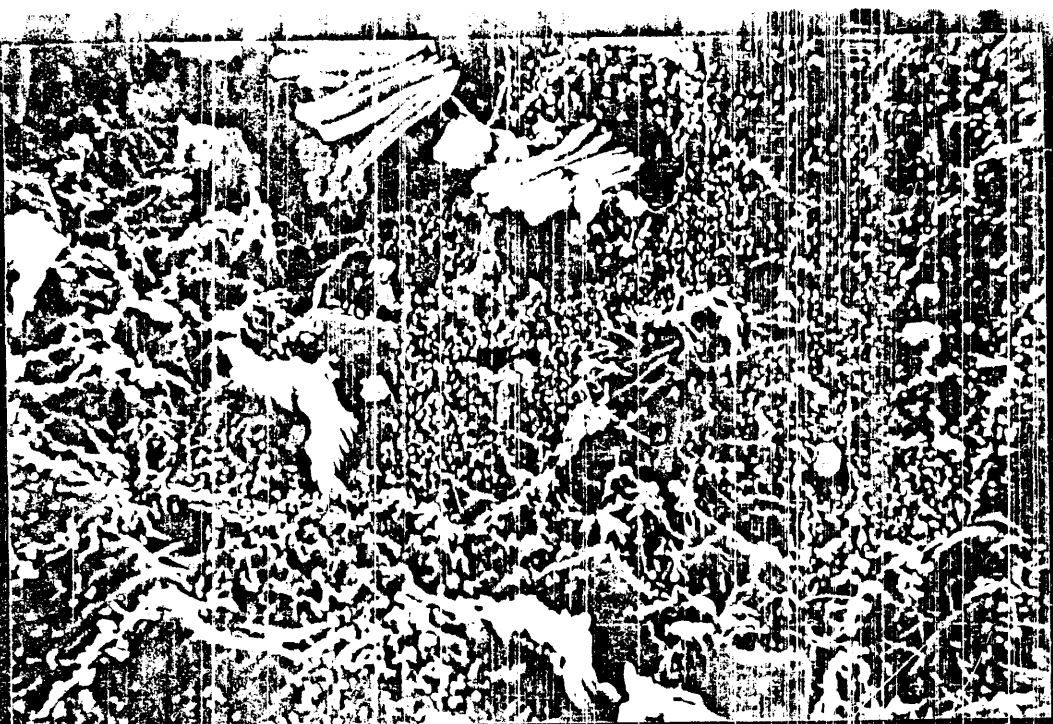


Foto 100.- Imagen con M.E.B. de la superficie endolinfática de la región externa. Los cilios de longitud mayor de la habitual, han perdido su rigidez característica y se encuentran disminuidos en número. La superficie cuticular muestra microvillis (flechas) y un material grumoso sobre su superficie (asteriscos). Notese los microvillis largos y terminados en maza que presentan las células de Deiters externas (D). (Gentamicina, 15 días, Vertice). x 12.800.

Foto 101.-Célula ciliada externa (C.E.) y prolongación falángica de células de Deiters externas (D). Los cilios muestran punto de fusión (flechas) y los microvillis de la célula de Deiters presentan una zona central más clara. (Gentamicina, 15 días, 3^a espira). x 38.000.



Foto 102.-Región externa a nivel del surco espiral externo (S.E.E.). Las células superficiales del surco muestran dilataciones de los canales intercelulares (asteriscos), y las células del corion externo contienen formaciones redondeadas (flechas) de límites netos sin separación estructural del resto del citoplasma. Los vasos a este nivel presentan espacios vacíos periendotheliales (puntas de flechas). (Gentamicina, 15 días, 3ª espira).
x 3.600.



SE

Foto 103.- Complejos interdentes de la región del limbo. Los canales intercelulares (asterisco) se encuentran muy dilatados y las células interdentes se mantienen unidas por uniones adherentes (flechas cortas). La membrana basal (flechas largas) se mantiene íntegra en todo su recorrido. (Gentamicina, 30 días, Basal).
x 9.600.



Foto 104.-Canal intercelular de complejo interdental con contenido anhisto de densidad electrónica media. (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 52.500.

Foto 105.-Células estrelladas del corion interno con múltiples prolongaciones de su citoplasma arrolladas sobre si. En el interior de estas células se observa un material anhisto de densidad electrónica media. (Gentamicina, 30 días, 2^a espira). x 17.760.

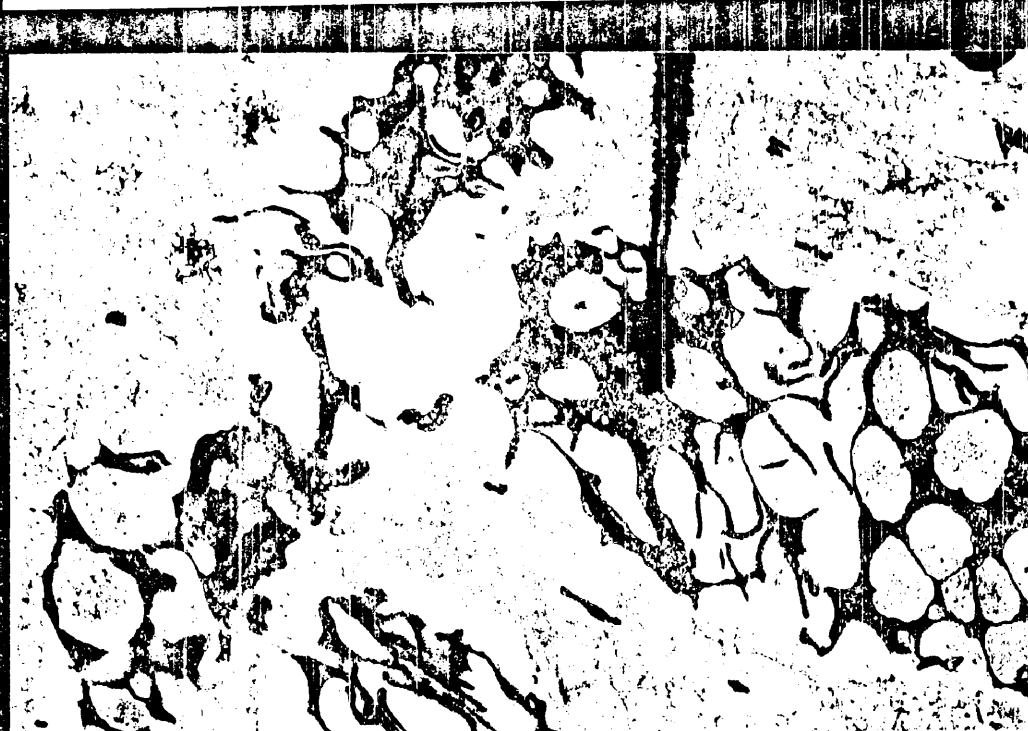


Foto 106.- Células del surco espiral interno con vesículas de R.E. dilatadas y presencia de un material irregular, anhisto, de densidad electrónica media (asterisco). (Gentamicina, 30 días, 2ª espira). x 11.200.

Foto 107.-Células marginales con aumento del sistema vacuolar. Se observan algunos lisosomas (flecha). (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 21.000.

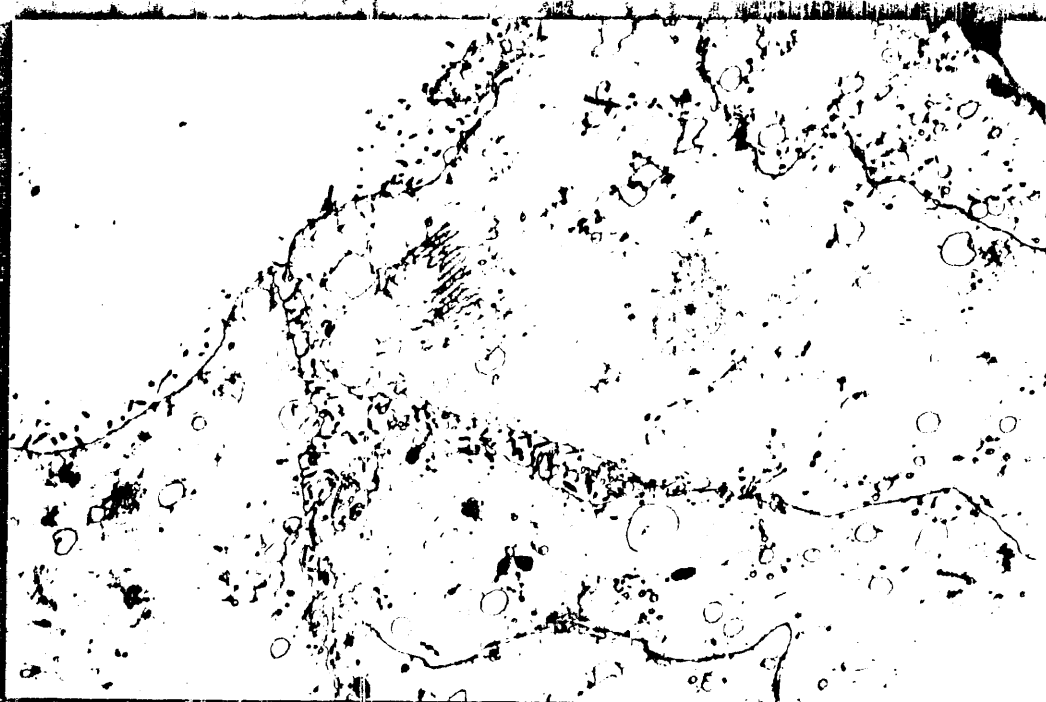


Foto 108.- Región interna a nivel del plexo interno. Las fibras nerviosas (asteriscos) que transcurren entre las células de Deiters internas (D) aparecen normales. Las células de Deiters (D) muestran vesículas electromicroscópicamente vacías (flechas) y algunas células (puntas de flechas) aparecen de densidad electrónica mayor de lo habitual. (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 22.000.

Foto 109.- Célula ciliada interna con vesículas de R.E. dilatadas (asteriscos) y abundante aparato de Golgi (flechas). (Gentamicina, 30 días, 3^a espira). x 36.000.

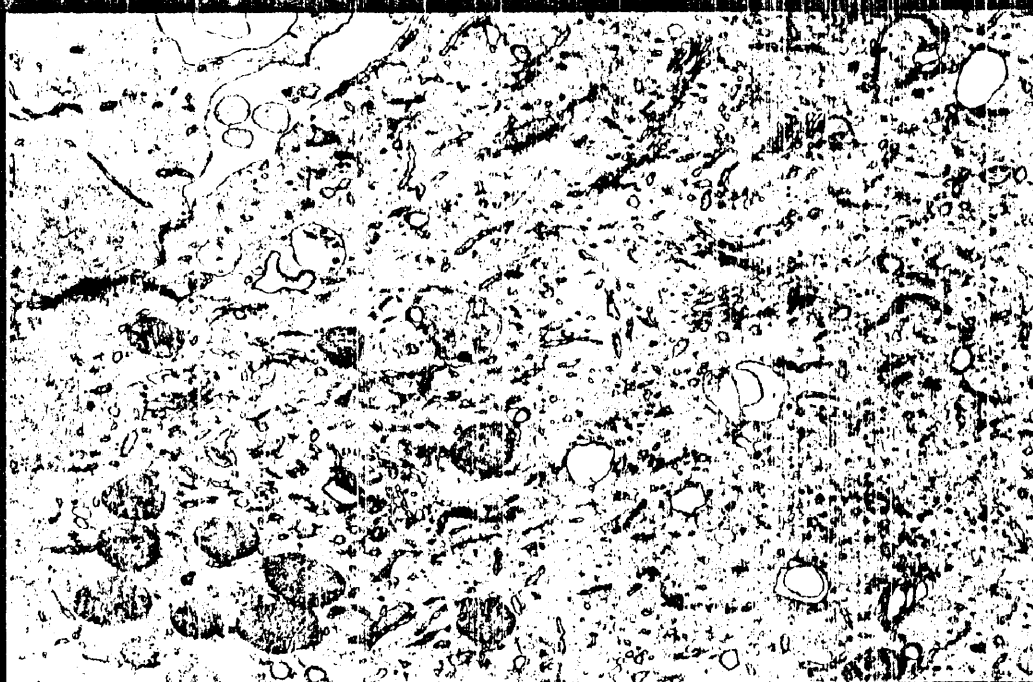


Foto 110. - Porción apical de células ciliadas internas.

En las inmediaciones de la cutícula (C) se observan gran cantidad de lisosomas (flechas). (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 36.000.

Foto 111. - Imagen en superficie de la región interna.

Las células ciliadas internas contienen menor número de cilios, y los que quedan aparecen desestructurados. La superficie cuticular (C) aparece algo elevada con algunos microvillis (flechas). (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 13.500.

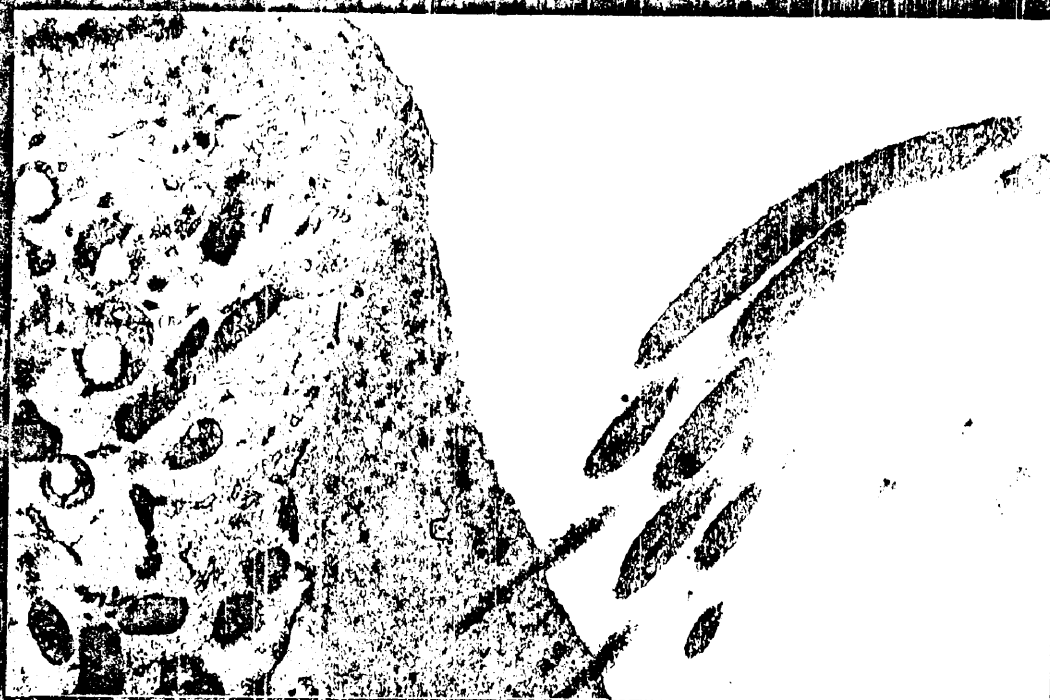


Foto 112.- Porción basal de pilar interno. Presenta aumento de R.E. (flechas cortas) y algunas vesículas aparecen enormemente dilatadas. (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 24.000.

Foto 113.- Parte media o tallo de pilar interno. Presenta un aumento y dilatación de R.E. (flechas). (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 27.000.

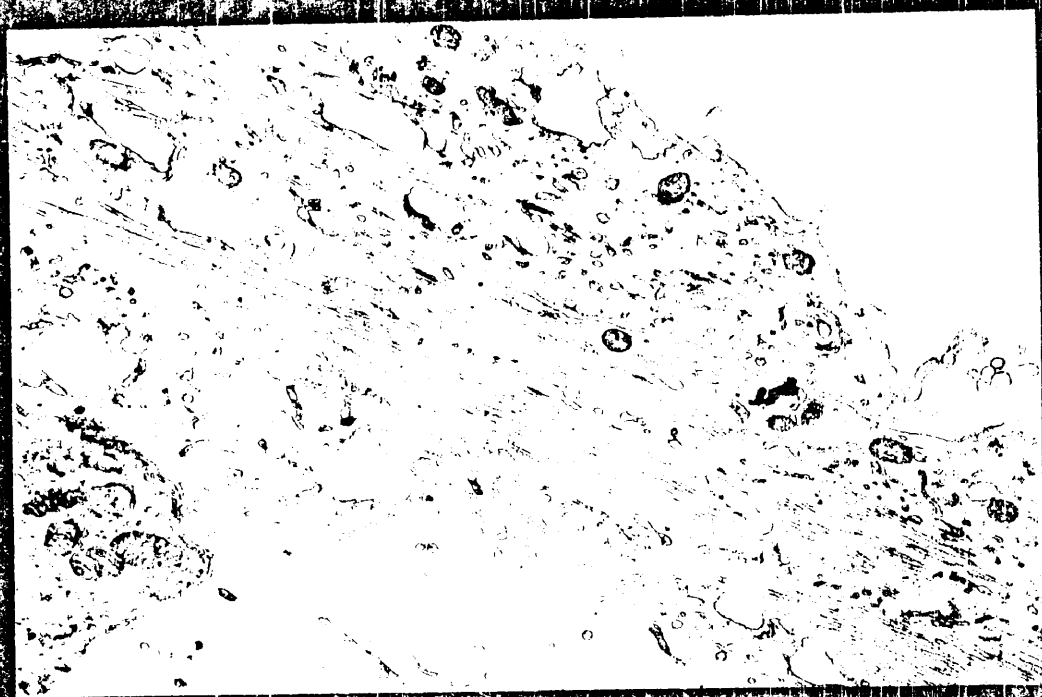


Foto 114.-Porción capital de pilar interno. Muestra una gran condensación apical así como un aumento de R.E. (flechas cortas). Su borde celular presenta de forma manifiesta grandes invaginaciones de su membrana celular (flechas largas). (Gentamicina, 30 días, 3ª espira).
x 37.000.

Foto 115.Célula ciliada externa. Presenta un aumento del R.E. con tendencia a formar cuerpos de Hensen (H) , y aumento de aparato de Golgi (flechas). La cutícula (C) aparece irregular y de menor densidad electrónica.
x 12.240.



Foto 116.- Célula ciliada externa, cuya cutícula de tamaño y grosor disminuidos, presenta una menor densidad electrónica y áreas mas claras. Debajo de la misma se observan gran cantidad de lisosomas. (Gentamicina, 30 días, 2^a espira). x 28.000.

Foto 117.-Células ciliadas externas con dilatación del R.E.L. , con formación de algunas vesículas de gran tamaño. (Gentamicina, 30 días, 2^a espira). x 12.000.



Foto 118.- Imagen con M.E.B. de la superficie endolinfática de la región de las células ciliadas externas. Las perdidas de penachos ciliares completos es manifiesta a nivel de 2^a (2) y 3^a (3) hilera; los restantes han perdido la rigidez ciliar. La superficie cuticular muestra microvillis (flechas) y el contorno de estas células es irregular (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 9.200.

Foto 119.-Célula ciliada externa. Cilios gigantes, que muestran pequeñas excrecencias en su superficie (flechas) (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 15.000.



Lámina XCIII

455

Foto 120.-Células de Hensen, cuyo citoplasma muestra aumento y dilatación de vesículas de R.E. (flechas). G, gotas de grasa. (Gentamicina, 30 días, Vertice) x 12.600.

Foto 121.- Células de Hensen con aumento y dilatación de R.E. (flechas). Las gotas lipídicas (G) se encuentran vertiendo su contenido a la endolinfa. (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 11.900.

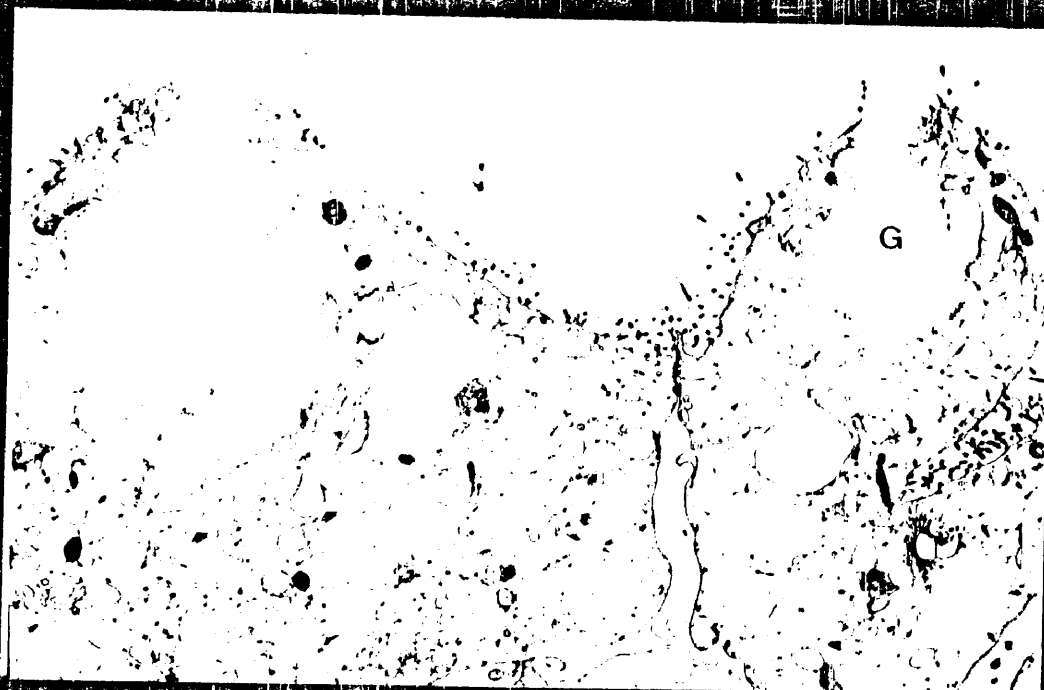
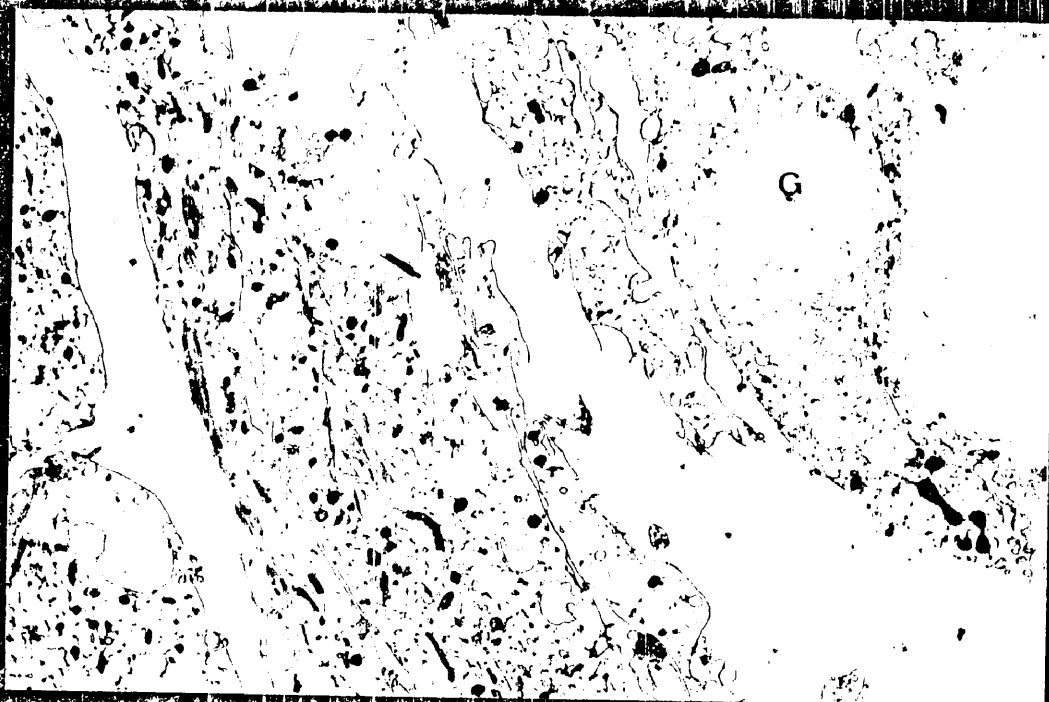


Lámina XCIV

457

Foto 122.-Células de Claudius con aumento y dilatación de las vesículas de R.E. (asteriscos). Los canales intercelulares se encuentran dilatados y el citoplasma contiene algunos cuerpos redondeados con pseudomembranas (flecha). (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 9.600.

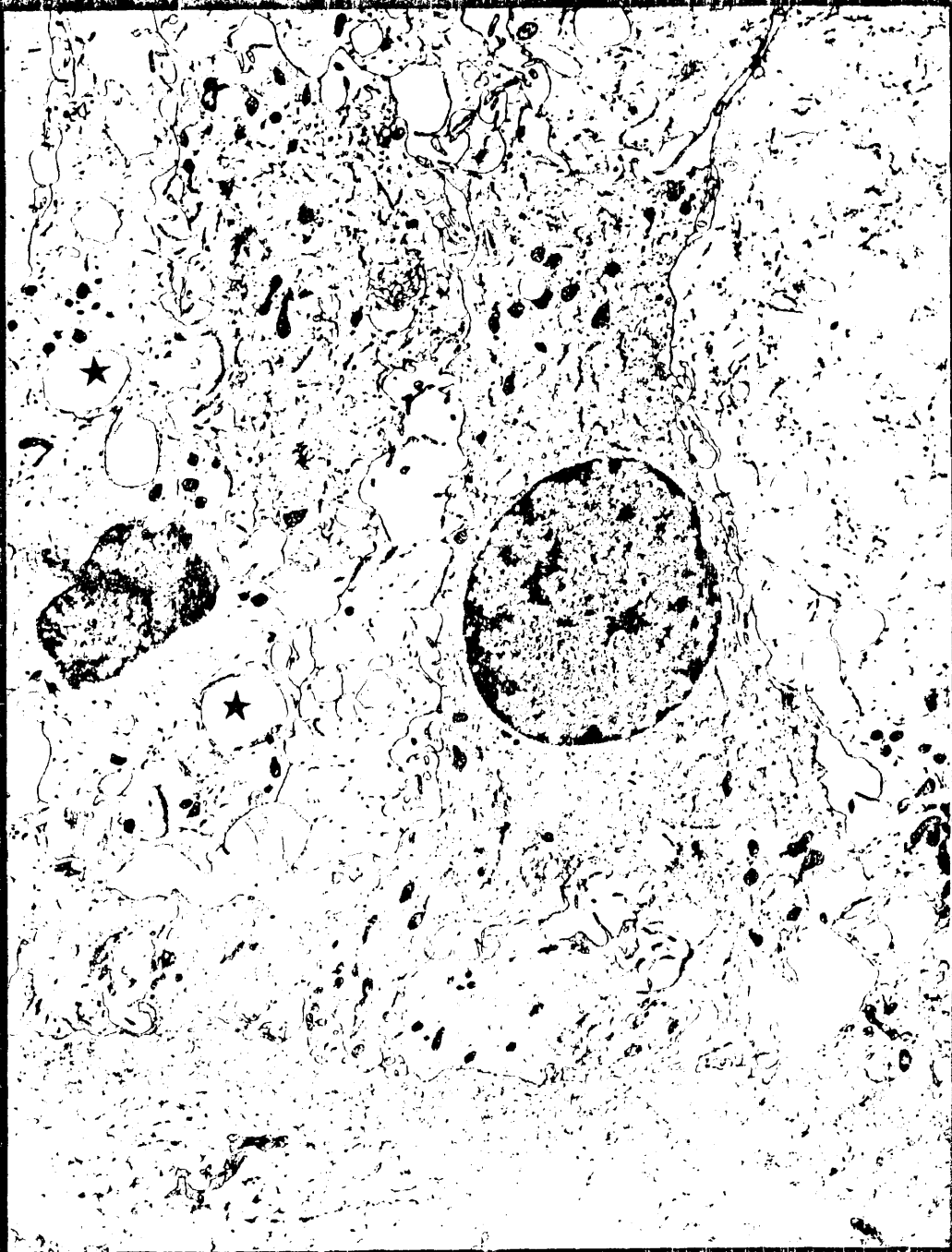


Lámina XCV

459

Foto 123.-Células del corion externo a nivel de la estria vascular. Presentan gran cantidad de cuerpos redondeados (flechas) de límites precisos pero sin membrana que la aisle del resto del citoplasma. (Gentamicina, 30 días, 2^a espira). x 3.600.

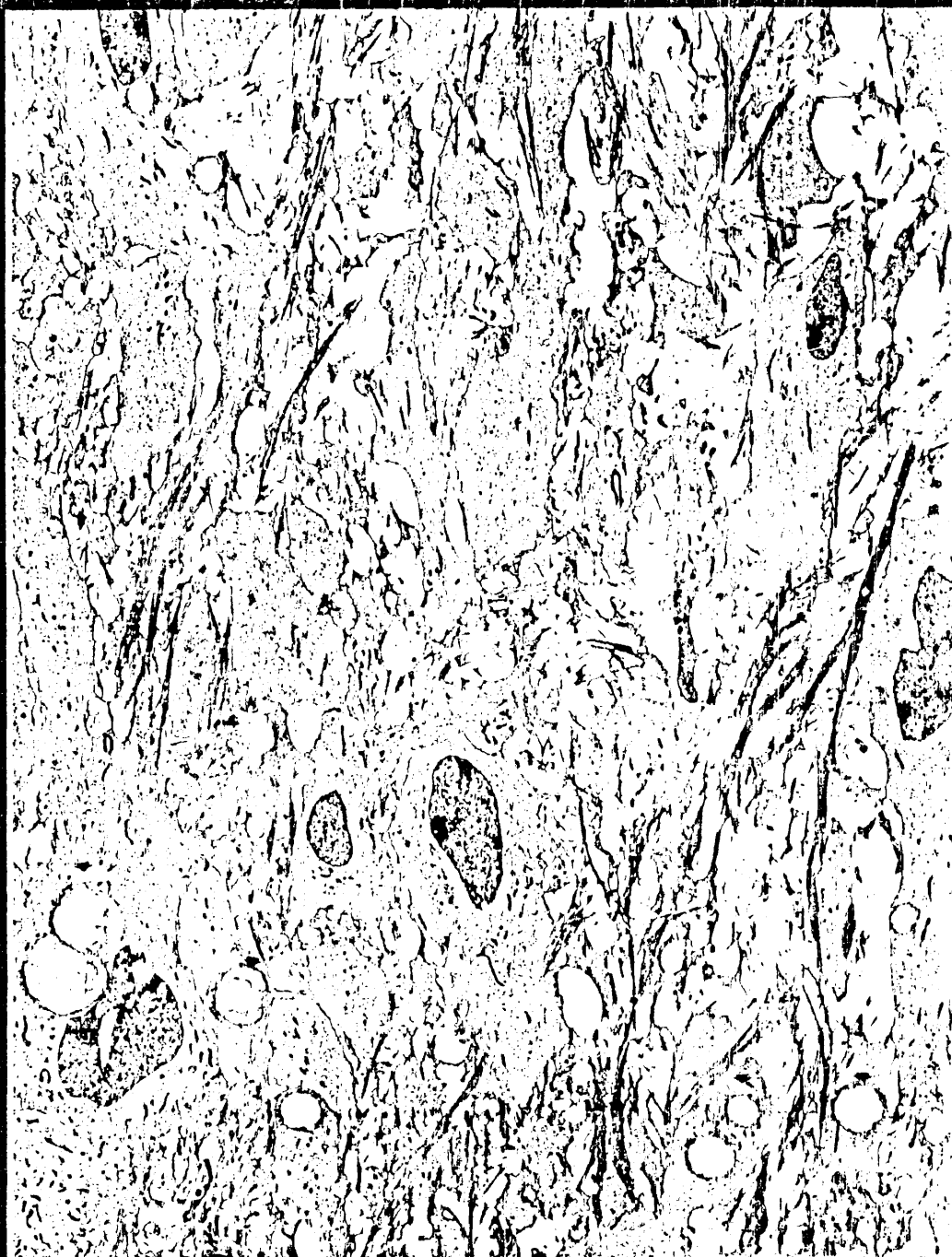


Foto 124.- Célula del surco externo cortada transversalmente. Una de ellas constituida por detritus celulares (flecha). La membrana basal (puntas de flechas) se mantiene íntegra. (Gentamicina, 30 días, 2^a espira). x 28.000.

Foto 125.- Membrana de Reissner con gran alteración de su sistema vacuolar (flechas). (Gentamicina, 30 días, Vértice). x 27.200.

